

**NEUE SYNTHETISCHE EISENCHELATOREN AUF DER BASIS  
VON MONOSACCHARIDEN IN ANALOGIE ZU BAKTERIELLEN  
SIDEROPHOREN**

**Dissertation**

zur Erlangung des akademischen Grades doctor rerum naturalium

(Dr. rer. nat)

vorgelegt dem Rat der Chemisch-Geowissenschaftlichen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Diplomchemikerin Susanne Heggemann

geboren am 27. November 1969 in Georgsmarienhütte

Gutachter:

1. Prof. Dr. Dieter Klemm
2. Prof. Dr. Winfried Plass

Tag der öffentlichen Verteidigung: 07.03.2007

Die Natur ist so gemacht, dass sie verstanden werden kann.

Oder vielleicht sollte ich richtiger sagen, unser Denken ist so gemacht,  
dass es die Natur verstehen kann.

*Werner Heisenberg*

Meinen Eltern und Klaus

**INHALTSVERZEICHNIS**

<b>1.</b>	<b>EINLEITUNG UND AUFGABENSTELLUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1.	Einleitung.....	1
1.2	Aufgabenstellung .....	3
<b>2.</b>	<b>ALLGEMEINER TEIL.....</b>	<b>5</b>
2.1	Siderophore .....	5
2.2	Eisen-Siderophor-Komplexbildung .....	9
2.3	Eisentransportmechanismen .....	10
2.3.1	Transportmechanismus in gramnegativen Bakterien.....	10
2.3.2	Eisentransport in Mykobakterien.....	14
2.4	Freisetzung von Eisen .....	15
<b>3.</b>	<b>ERGEBNISSE UND DISKUSSION.....</b>	<b>17</b>
3.1	Synthesen.....	17
3.1.1	Synthese der Catechol- und Hydroxamat-Ligandeneinheiten.....	17
3.1.2	Synthese von Biscatechol-Siderophor-Analoga .....	20
3.1.3	Synthese von Triscatechol-Siderophor-Analoga .....	21
3.1.3.1	Triscatecholate mit Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosidgrundgerüst.....	21
3.1.3.2	Synthese von Dihydroxybenzylidenhydrazino-Derivaten aus Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid .....	26
3.1.3.3	Triscatecholate mit Galactopyranosidgrundgerüst.....	28
3.1.3.4	Triscatecholate mit Ribopyranosidgrundgerüst .....	29
3.1.4	Synthese von Trishydroxamat-Siderophor-Analoga .....	30
3.1.5	Versuche zur Synthese von Glycerintriscatecholaten als Modellverbindungen.....	35
3.2	Physikochemische Untersuchungen der Monosaccharidsiderophore.....	36
3.2.1	Triscatecholate .....	36
3.2.1.1	Bestimmung der Protonierungskonstanten der Triscatecholatligenanden. ....	36
3.2.1.2	Komplexstabilität und Strukturverteilung.....	41
3.2.2	Trishydroxamat .....	44
3.2.2.1	Ligand-Deprotonierungskonstante.....	44
3.2.2.2	Fe <sup>III</sup> H <sub>3</sub> LC-Komplexgleichgewicht und Protonierungskonstanten.....	45
3.2.2.3	Komplexbildungskonstante und Verteilungskurve .....	48

3.2.2.4	Elektrochemische Untersuchungen und Fe <sup>2+</sup> -Chelatisierung .....	49
3.3	Mikrobiologische Testungen .....	54
3.3.1	Untersuchung der Siderophoraktivität.....	54
3.3.2	Wirkung auf Mykobakterien.....	58
3.3.3	CAS-Test und Beziehungen zwischen Fe <sup>3+</sup> -Komplexbildung und Siderophorwirkung.....	61
3.3.4	Antibakterielle Testungen.....	63
3.3.5	Wirksamkeit gegen den Malariaerreger <i>Plasmodium falciparum</i> in infizierten menschlichen Erythrocyten.....	64
4.	EXPERIMENTELLER TEIL .....	66
4.1	Chemikalien .....	66
4.2	Messmethoden.....	66
4.2.1	Potentiometrische Messungen.....	66
4.2.2	Spektroskopische Messungen.....	66
4.2.2.1	UV/VIS-Spektroskopie zur Messung der Fe <sup>3+</sup> -Komplexe .....	66
4.2.3	Kernmagnetische Resonanzspektroskopie .....	67
4.2.4	Massenspektrometrische Messungen .....	67
4.2.5	Elementaranalyse.....	67
4.2.6	Drehwertbestimmung.....	67
4.2.7	Chromatographische Methoden.....	67
4.2.7.1	Dünnschichtchromatographie (DC).....	67
4.2.7.2	Säulenchromatographie.....	67
4.2.7.3	High Pressure Liquid Chromatography (HPLC).....	67
4.2.8	Elektrochemische Verfahren. ....	68
4.3	Synthesen.....	68
4.3.1	Vorstufen.....	68
4.3.2	Siderophorsynthesen .....	70
5.	ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK.....	102
6.	LITERATURVERZEICHNIS .....	106

**ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

<b>Abb. 1</b>	Synthetische Siderophore mit Monosaccharidgrundgerüst sowie Catechol- und Hydroxamatkomplexgruppen.....	<b>3</b>
<b>Abb. 2</b>	Struktur des Enterobactins und des Desferrichroms .....	<b>6</b>
<b>Abb. 3</b>	Wirkprinzip der Siderophor-Antibiotika-Konjugate .....	<b>8</b>
<b>Abb. 4</b>	Anlagerung von Eisen-Siderophor-Komplexen an Eisenrezeptorproteine .....	<b>12</b>
<b>Abb. 5</b>	Schematische Darstellung eines Siderophor-vermittelten Eisentransports in gramnegativen Bakterien.....	<b>13</b>
<b>Abb. 6</b>	Synthese von 2,3-Di-(acetoxy)benzoylchlorid .....	<b>17</b>
<b>Abb. 7</b>	Synthese von 3,4-Di-(methoxycarbonyloxy)benzoylchlorid .....	<b>18</b>
<b>Abb. 8</b>	Synthese von 2,3-Di-(acetoxy)phenoxyacetylchlorid.....	<b>18</b>
<b>Abb. 9</b>	Synthese von 8-Methoxycarbonyloxy-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-1,3-benzoxazin-3-yl-acetylchlorid und 8-Methoxycarbonyloxy-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-1,3-benzoxazin-3-yl-propionylchlorid .....	<b>18</b>
<b>Abb. 10</b>	Synthese von <i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -(benzoyloxy)glutaramid.....	<b>19</b>
<b>Abb. 11</b>	Synthese von <i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -(benzyloxy)glutaramid und <i>N</i> -Methyl- <i>N</i> -(benzyloxy)succinamid .....	<b>19</b>
<b>Abb. 12</b>	Synthese der Biscatecholatverbindung aus Methyl-4,6- <i>O</i> -isopropyliden- $\alpha$ - <i>D</i> -glucopyranosid und 2,3-Di-(acetoxy)benzoylchlorid.....	<b>20</b>
<b>Abb. 13</b>	Veresterungen von Methyl-6- <i>O</i> -trityl- $\alpha$ - <i>D</i> -glucopyranosid .....	<b>21</b>
<b>Abb. 14</b>	Chromatogramm einer HPLC-Trennung der Verbindung 6 .....	<b>22</b>
<b>Abb. 15</b>	ESI-Massenspektrum einer HPLC-Fraktion der Verbindung 6.....	<b>23</b>
<b>Abb. 16</b>	Synthese und Struktur der Triscatecholatverbindungen von Methyl- $\alpha$ - <i>D</i> -glucopyranosid .....	<b>24</b>
<b>Abb. 17</b>	Synthese verschiedener Aminspacer über Trisallylverbindungen.....	<b>26</b>
<b>Abb. 18</b>	Synthese von Methyl-2,3,4-Tris-[2-(2,3-dihydroxybenzylidenhydrazinocarbonyl)ethyl]- <i>a</i> - <i>D</i> -glucopyranosid und Methyl-2,3,4-tris-[2-(2,3-di(methoxycarbonyloxy)benzylidenhydrazinocarbonyl)ethyl]- <i>a</i> - <i>D</i> -glucopyranosid .....	<b>27</b>
<b>Abb. 19</b>	Synthese von Methyl-2,3,4- <i>O</i> -Tris-[2-(2,3-dihydroxybenzylidenhydrazinocarbonyl)methyl]- <i>a</i> - <i>L</i> -rhamnopyranosid.....	<b>28</b>
<b>Abb. 20</b>	Synthese und Struktur des Triscatecholats von Methyl- <i>a</i> - <i>D</i> -galactopyranosid .....	<b>28</b>
<b>Abb. 21</b>	Synthese und Struktur des Triscatecholats von Methyl- <i>a</i> - <i>D</i> -ribopyranosid.....	<b>29</b>

<b>Abb. 22</b>	Darstellung von 2,4,6-Tribenzyl- <i>myo</i> -inosit aus <i>myo</i> -Inosit.....	<b>30</b>
<b>Abb. 23</b>	Trishydroxamatsynthesen ausgehend von verschiedenen Monosacchariden.....	<b>31</b>
<b>Abb. 24</b>	Chromatogramm einer HPLC-Trennung der Verbindung 33c.....	<b>32</b>
<b>Abb. 25</b>	Zweidimensionales HMBQC- <sup>13</sup> C, <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum der Verbindung 33c in CDCl <sub>3</sub> .....	<b>33</b>
<b>Abb. 26</b>	500 MHz-NOESY- <sup>1</sup> H-NMR-Spektrum der Verbindung 33c in CD <sub>3</sub> OD.....	<b>34</b>
<b>Abb. 27</b>	Versuche zur Synthese von Triscatecholatverbindungen von Glycerin .....	<b>35</b>
<b>Abb. 28</b>	Potentiometrische Titrationskurven.....	<b>37</b>
<b>Abb. 29</b>	UV/VIS-Spektrum von Fe <sup>III</sup> H <sub>n</sub> L <sub>A</sub> als Funktion des pH-Werts .....	<b>39</b>
<b>Abb. 30</b>	Berechnete Verteilungskurven für die Fe <sup>3+</sup> -Komplexe von (a) H <sub>6</sub> L <sub>A</sub> und (b) H <sub>6</sub> L <sub>B</sub> .....	<b>41</b>
<b>Abb. 31</b>	Zwei mögliche Bindungsstrukturen für die Fe <sup>3+</sup> -Chelatisierung (a) als Catecholat bzw. (b) als Salicylat.....	<b>42</b>
<b>Abb. 32</b>	Potentiometrische Titrationskurven des Hydroxamats.....	<b>45</b>
<b>Abb. 33</b>	Spektrophotometrische Titration: UV/VIS-Spektren von Fe <sup>III</sup> H <sub>3</sub> L <sub>C</sub> als Funktion des pH-Werts .....	<b>46</b>
<b>Abb. 34</b>	Berechnete Verteilungskurven für (A) Fe <sup>3+</sup> - und (B) Fe <sup>2+</sup> -Komplexe von H <sub>3</sub> L <sub>C</sub> .....	<b>48</b>
<b>Abb. 35</b>	Zyklovoltammogramm von Fe <sup>III</sup> L <sub>C</sub> .....	<b>50</b>
<b>Abb. 36</b>	Fe <sup>III</sup> L <sub>C</sub> -Reduktionspotential (E <sub>1/2</sub> ) in Abhängigkeit vom pH-Wert.....	<b>51</b>
<b>Abb. 37</b>	Reversibles Redoxpotential (-E <sub>1/2</sub> ) in Abhängigkeit von der Komplex- stabilitätskonstante p[Fe] für vollständig koordinierte Eisenkomplexe natürlicher und synthetischer Hydroxamatsiderophore .....	<b>53</b>
<b>Abb. 38</b>	Wachstumsförderung eines Mykobakterienstamm durch verschiedene Siderophore .....	<b>59</b>
<b>Abb. 39</b>	CAS –Test.....	<b>62</b>

## TABELLENVERZEICHNIS

<b>Tab. 1</b>	Ligandprotonierungskonstanten für $H_6L_A$ und $H_6L_B$ .....	<b>38</b>
<b>Tab. 2</b>	Isosbestische Punkte der $Fe^{III}H_6L_A$ und $Fe^{III}H_6L_B$ -Komplexe .....	<b>40</b>
<b>Tab. 3</b>	Protonierungskonstanten für die $Fe^{III}H_6L$ -Komplexe.....	<b>41</b>
<b>Tab. 4</b>	$Fe^{3+}$ -Stabilitätskonstanten von $L_A$ und $L_B$ .....	<b>43</b>
<b>Tab. 5</b>	Ligand- $pK_a$ -Werte für $H_3L_C$ im Vergleich mit natürlichen und synthetischen Siderophoren .....	<b>44</b>
<b>Tab. 6</b>	Protonierungskonstanten für $Fe^{III}L_C$ und Ferrioxamin B.....	<b>47</b>
<b>Tab. 7</b>	Thermodynamische Parameter von Fe-Siderophor-Komplexen.....	<b>49</b>
<b>Tab. 8</b>	Wachstumsförderung von gramnegativen Bakterien durch Bis- und Tris- Catecholate bei Bakterienmutanten, die in ihrer Eisenversorgung gestört sind .....	<b>55</b>
<b>Tab. 9</b>	Wachstumsförderung von gramnegativen Bakterien unter Eisenmangel .....	<b>56</b>
<b>Tab. 10</b>	Wachstumsförderung von <i>E. coli</i> - Stämmen und <i>K12</i> -Mutanten durch ausgesuchte Verbindungen.....	<b>58</b>
<b>Tab. 11</b>	Wachstumsförderung verschiedener Stämme von Mykobakterien durch Bis- und Tris-Catecholate.....	<b>59</b>
<b>Tab. 12</b>	Wachstumsförderung von Mykobakterien durch Catecholate und Hydroxamate mit und ohne Eisen(III).....	<b>59</b>
<b>Tab. 13</b>	CAS-Test-Ergebnisse .....	<b>62</b>
<b>Tab. 14</b>	Wirksamkeit von Substanz 8 gegen verschiedene Bakterienstämme im Agar- diffusionstest.....	<b>64</b>
<b>Tab. 15</b>	Untersuchung der antiplasmodialen Aktivität, Toxizität und Reversibilität des antiplasmodialen Effekts verschiedenartiger Catecholatsiderophore.....	<b>64</b>



**ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

[M+Na] <sup>+</sup>	Quasimolekülion als Natriumaddukt
[ $\alpha$ ] <sub>D</sub>	optischer Drehwert
Abb.	Abbildung
abs.	absolut
Ac	Acetyl
aq	aquatisiert
arom.	aromatisch
ATP	Adenosin-Triphosphat
ber.	berechnet
Bn	Benzyl
br	breit (NMR)
d	Dublett (NMR)
DC	Dünnschichtchromatographie
DCC	Dicyclohexylcarbodiimid
dd	doppeltes Dublett (NMR)
DFO	Desferrioxamin B
DHBA	2,3-Dihydroxybenzoesäure
DHBS	2,3-Dihydroxybenzoylserin
DMAP	4- <i>N,N</i> -Dimethylaminopyridin
DMF	<i>N,N</i> -Dimethylformamid
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
eq.	Moläquivalent
$\Delta$	Erwärmung/Hitze
ESI	Electrospray Ionisation
<i>et al.</i>	und Mitarbeiter
Et	Ethyl
FAB	Fast Atom Bombardement
Fp.	Schmelzpunkt
gef.	gefunden
ges.	gesättigt
Gl.	Gleichung
h	Stunde
HDME	Hanging Drop Mercury Electrode
HMBQC-NMR	Hetero Molecular Bond Quantum Coherence - Nuclear Magnetic Resonance
HPLC	High Pressure Liquid Chromatography
Hz	Hertz
IROMP	Iron Regulated Outer Membrane Protein
L	Ligand
LM	Lösungsmittel
LMCT	Ligand-Metall-Charge-Transfer
M	Molar
m	Multipllett (NMR)
m/z	Quotient aus Masse und Ladungszahl
Me	Methyl
min	Minute
Moc	Methoxycarbonyl
MS	Massenspektrum
NEt <sub>3</sub>	Triethylamin

---

NHE	Normal-Wasserstoff-Elektrode
NMR	Nuclear Magnetic Resonance
NOESY-NMR	Nuclear Overhauser Effect System
Ph	Phenyl
q	Quartett (NMR)
R	Rest
Rf	Retentionsfaktor bei der DC
RT	Raumtemperatur
S.	Seite
s	Singulett (NMR)
Sdp.	Siedepunkt
t	Triplett (NMR)
T	Temperatur
Tab.	Tabelle
TEA	Triethylamin
tert	tertiär
TFA	Trifluoressigsäure
THF	Tetrahydrofuran
Trityl	Triphenylmethyl
Ts	Tosyl
v/v	Volumenverhältnis
$\delta$	chemische Verschiebung in ppm (NMR-Spektroskopie)

# 1. EINLEITUNG UND AUFGABENSTELLUNG

## 1.1 Einleitung

Eisen ist essentiell für das Zellwachstum fast aller Organismen. Es ist für die Wirkung vieler Enzyme verantwortlich, die an Elektronen- oder Sauerstofftransportprozessen beteiligt sind. Da es leicht zwischen den Oxidationsstufen  $\text{Fe}^{2+}$  und  $\text{Fe}^{3+}$  wechseln kann, wirkt es bei vielen Redoxprozessen mit. Viele Mikroorganismen benötigen Eisen z. B. für die Sauerstoffreduktion bei der ATP-Synthese.

Obwohl Eisen ein sehr häufiges Element und zu 4,7 % am Aufbau der äußeren Erdkruste beteiligt ist, ist seine Bioverfügbarkeit stark eingeschränkt. Unter physiologischen Bedingungen im aeroben Milieu bei neutralem pH liegt Eisen fast ausschließlich als Eisen(III)-hydroxid-Komplex mit einem Löslichkeitsprodukt von  $10^{-39}$  vor. [Crichton *et al.*, 2001, Winkelmann, 1991]. Bei einem pH-Wert von 7,4 und in Abwesenheit chelatisierender Liganden liegt der Gehalt an löslichem Eisen [ $\text{Fe}^{3+}_{(\text{aq})} + \text{Fe}(\text{OH})^{2+}_{(\text{aq})} + \text{Fe}(\text{OH})_2^{+}_{(\text{aq})}$ ] bei  $10^{-10}$  M, wobei der Gehalt von  $\text{Fe}^{3+}$  ungefähr  $10^{-18}$  M beträgt [Boukhalifa *et al.*, 2002, Winkelmann *et al.* 1997]. Diese Konzentration ist viermal niedriger als die von Mikroorganismen für ein optimales Wachstum benötigte Eisenkonzentration [Braun & Killmann, 1999]. Um eine ausreichende Versorgung der Zelle mit Eisen unter Mangelbedingungen zu gewährleisten, produzieren die meisten Mikroorganismen, aber auch einige Pflanzen und höhere Organismen Siderophore, die in der Lage sind  $\text{Fe}^{3+}$ -Ionen durch Chelatisierung in Lösung zu bringen, sie durch die Zellmembran zu transportieren und in der Zelle wieder freizusetzen [Ito *et al.*, 1979; Pattus & Abdallah, 2000].

Siderophore sind niedermolekulare Substanzen, die eine hohe und spezifische Affinität für  $\text{Fe}^{3+}$ -Ionen zeigen. Das Eisen wird hierbei vorwiegend oktaedrisch von Sauerstoff koordiniert.

Bisher wurden fast 500 verschiedene Siderophore isoliert, die entsprechend ihrer chelatisierenden Liganden in folgende Klassen unterteilt werden können:

1. Hydroxamate (z. B. Ferrichrom, Ferrioxamine)
2. Catecholate, wie Enterobactin
3.  $\alpha$ -Hydroxycarbonsäuren (z. B. Vibrioferrin [Reid *et al.*, 1993]) und
4. Siderophore mit gemischten Liganden.

Als Grundstrukturen werden vor allem Aminosäuren, Peptide und Polyamine in der Natur gefunden [Drechsel & Jung, 1998; Schnabelrauch *et al.*, 2000]. Das stärkste bisher bekannte Siderophor Enterobactin ist z. B. ein Trimer des *N*-(2,3-Dihydroxybenzyl)-serins. Das

natürliche, aus *E. coli* und anderen Enterobakterien isolierte *D*-Isomer, besitzt eine hohe Siderophorwirksamkeit, das *L*-Isomer ist dagegen nur gering wirksam.

Die Desferrichrome gehören zu den von Pilzen gebildeten Hydroxamat-Siderophoren. Aufgrund der guten Wasserlöslichkeit und höheren Stabilität dieser Strukturklasse konnte ihre Rolle im Rezeptor-Erkennungsprozess bei der Aufnahme der Eisen-Siderophor-Komplexe in die Zelle bereits gut untersucht werden. Hieraus ergab sich, dass Siderophoraufnahmesysteme einerseits strenge Anforderungen an die Siderophorstrukturen stellen, andererseits trotzdem eine hohe Strukturvielfalt aufweisen. Ein exaktes Bild über definierte Strukturbedingungen für wirksame Siderophore auch bei unterschiedlichen Bakterienarten ist trotz allem noch nicht möglich.

Die Darstellung neuer synthetischer Siderophoranaloga leistet einen großen Beitrag zur Aufklärung der Struktur-Wirkungsbeziehung von Siderophoren. Zusätzlich wurden bei synthetischen Analoga auch biologisch relevante Aktivitäten gefunden, wie die Wirkung gegen Eisen-Überladungskrankheiten, antimikrobielle Wirkungen oder als Transfervektoren für Antibiotika. So steigern Siderophor-Antibiotika-Konjugate die Wirkung der Antibiotika besonders gegen gramnegative Bakterien durch die Penetration der Zellmembran. Die zunehmende Resistenz vieler pathogener Keime gegen Antibiotika macht die Suche nach neuen Wirkprinzipien dringend erforderlich. Daraus ergibt sich ein starker Bedarf weiterer Forschung nach neuen Siderophoranaloga. In der Vergangenheit konnten derartige Verbindungen jedoch noch nicht klinisch angewendet werden, u.a. wegen ihrer ungünstigen Nebenwirkungen.

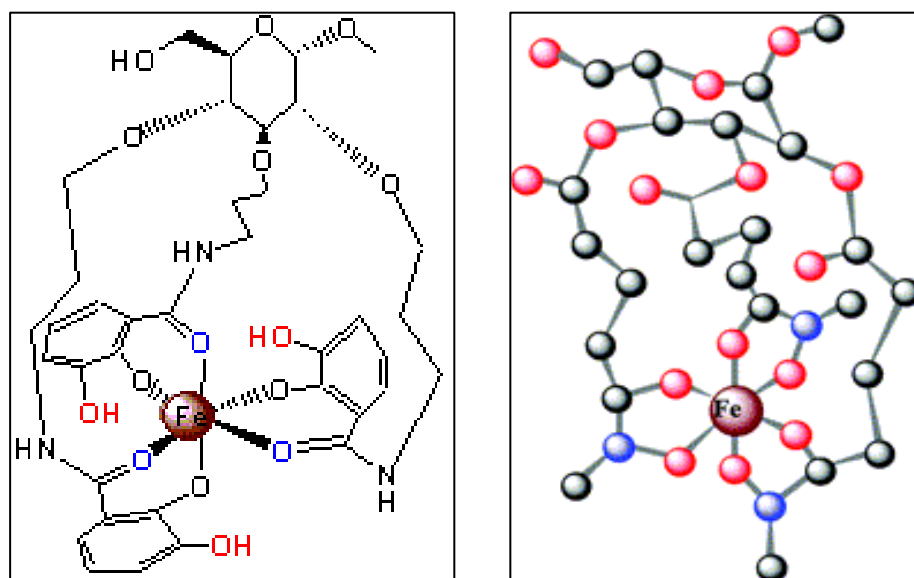
Bisherige synthetische Analoga von Enterobactin besitzen zwar eine starke Siderophoraktivität, sind aber schlecht wasserlöslich, selten chiral und damit oft ineffektiv in ihrer Rezeptorerkennung.

Artifizielle Siderophoranaloga mit Monosaccharidgrundgerüst waren zu Beginn der Arbeit in der Literatur noch nicht beschrieben. Dabei bieten Monosaccharide wegen ihrer hohen Stabilität, ihrer leichten Zugänglichkeit als nachwachsende Rohstoffe, ihrer guten Wasserlöslichkeit durch die Möglichkeit zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken und ihrer hohen sterischen Variabilität, die eine unterschiedliche Anordnung von Chelatliganden ermöglichen würde, große Vorteile.

## 1.2 Aufgabenstellung

Aufgrund ihrer strukturellen Komplexität und ihrer Eigenschaften als Eisenchelatoren besteht ein großes Interesse an der Entwicklung neuartiger synthetischer Siderophore, zum einen, um Transportmechanismen der Zelle besser verstehen zu können, vor allem aber um die Nachfrage nach Alternativen für die Behandlung von multiresistenten bakteriellen Infektionen decken zu können. Über den Einsatz von Siderophor-Wirkstoff-Konjugaten können Probleme der Zellpermeabilität für Therapeutika umgangen werden. Durch künstliche Siderophoranaloga kann aber auch die mikrobielle Eisenassimilation blockiert und damit das Wachstum pathogener Keime durch Eisenmangel inhibiert werden.

Im Rahmen dieser Arbeit sollten daher synthetische Siderophore nach dem Vorbild des Enterobactins und des Desferrichroms durch gezieltes Strukturdesign von Kohlenhydraten, insbesondere von Monosacchariden (Glucoside, Galactoside, Riboside und Xyloside) und zuckerähnlichen Verbindungen wie *myo*-Inositol unter Einbeziehung von Spacergruppen mit Catechol- und Hydroxamatgruppen hergestellt werden (siehe **Abb. 1**). Die Verwendung von *O*-Acetyl-, *O*-Methoxycarbonyl-, und Benzoxazinderivaten als heterozyklische verbrückende Catecholate und *O*-Acylhydroxamaten wurde angestrebt, um eventuell pharmakologisch besser verträgliche Verbindungen zu erhalten.



**Abb. 1: Synthetische Siderophore mit Monosaccharidgrundgerüst sowie Catechol- und Hydroxamatkomplexgruppen**

Die Wahl eines Monosaccharidgrundgerüsts für Siderophor-Analoga sollte mehrere Vorteile bieten. Durch die Verwendung eines hydrophilen Kohlenhydratgerüsts sollte sich eine höhere Wasserlöslichkeit für die hergestellten Moleküle ergeben. Weiterhin sollte die

Gegenwart von Sauerstoffatomen in und um den Monosaccharidring dem zyklischen Grundgerüst die Fähigkeit geben, als Wasserstoffbrückenbindungsakzeptor während des Zellrezeptor-Erkennungsprozesses zu wirken. Zusätzlich sollte die geringe Hydrolyseempfindlichkeit des Zuckergrundgerüsts einen positiven Einfluss auf die Stabilität der synthetischen Siderophor-Analoga zeigen.

Die synthetisierten Analoga sollten anschließend hinsichtlich ihrer Eigenschaften als Eisenchelatoren und ihrer Erkennung in Eisen-Siderophor-Rezeptorsystemen untersucht werden.

Weiterhin sollten die artifiziellen Siderophor-Analoga systematisch auf ihre biologische Wirkung geprüft werden. Hierbei stand vor allem die Siderophoraktivität, insbesondere gegen gramnegative Bakterien (Siderophormangelmutanten und Praxisstämme unter Eisenmangel) und Mykobakterien (klassische Mutanten und Genmutanten B3, U3) im Vordergrund. Mykobakterien verfügen im Gegensatz zu gramnegativen Bakterien über ein biphasisches Siderophorsystem. Um synthetische Siderophoranaloga hier einsetzen zu können, müssen sie in beiden Phasen wirksam sein.

Daneben sollten die Substanzen auf ihre antibakterielle und Antimalariawirksamkeit getestet werden. Eine weitere Methode, um Aufschluss über die Wirkung der synthetischen Siderophor-Analoga zu erlangen, sollte die physikalische Untersuchung ihrer Eisen(III)-Komplexe sein.

## 2. ALLGEMEINER TEIL

### 2.1 Siderophore

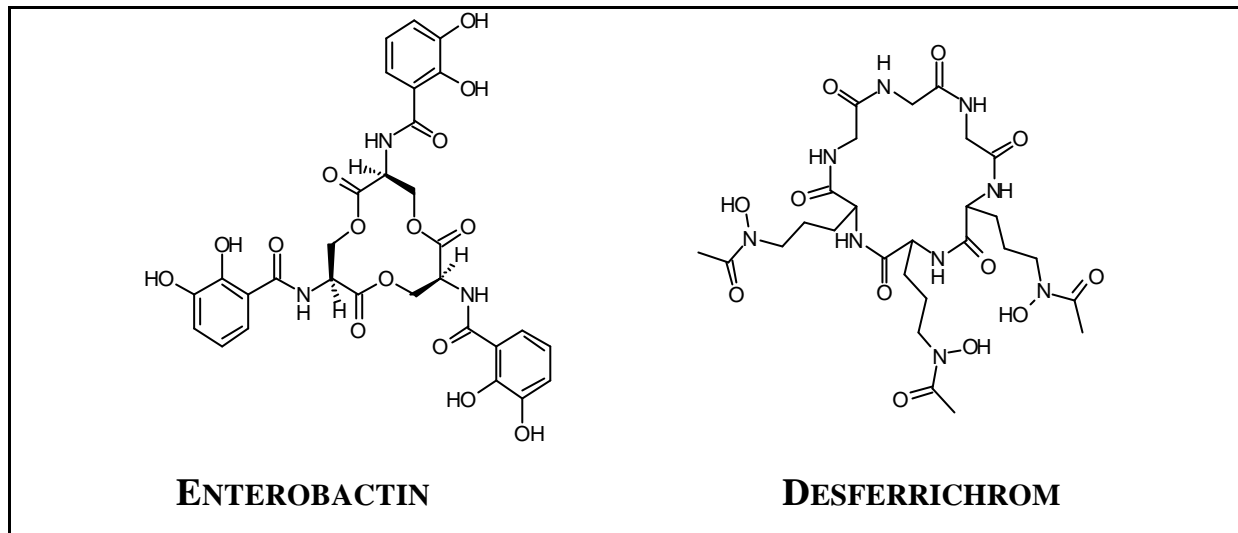
Siderophore sind niedermolekulare eisenkomplexierende Verbindungen mit bestimmten chemischen Eigenschaften. Sie besitzen eine hohe und spezifische Affinität für  $\text{Fe}^{3+}$ -Ionen, hierbei wird das Eisenion vorwiegend oktaedrisch von Sauerstoff koordiniert.

Die effektivsten Siderophore besitzen Mehrfachliganden für eine optimale Koordination des  $\text{Fe}^{3+}$ -Ions. Die weitaus meisten Siderophore sind sechszählig, um in einem 1:1-Komplex die Koordinationsstellen des Eisens abzusättigen. Jedoch werden von Mikroorganismen auch vierzählige Siderophore produziert. Diese bilden mehrkernige Assoziate, wie  $\text{Fe}_2\text{L}_3$ , um eine vollständige Koordination zu erzielen. Zweizählige Liganden zeigen im Vergleich mit den mehrzähligen Liganden die geringste  $\text{Fe}^{3+}$ -Affinität. Hierbei spielt der Konzentrationseffekt bei der Bildung der Komplexe die entscheidende Rolle. Da drei zweizählige Liganden für die oktaedrische Koordination eines  $\text{Fe}^{3+}$ -Ions benötigt werden, müssen diese in höherer Konzentration als ein sechszähliger Ligand vorliegen, der ein  $\text{Fe}^{3+}$ -Ion alleine komplexieren kann. Weiterhin sind 1:1-Komplexe bevorzugt, da sie den Entropieeffekt des Chelatisierungsvorgangs minimieren.

Zusätzlich zu Art und Anzahl der chelatisierenden Gruppen im Siderophor hat auch das Grundgerüst Einfluss. Zyklische Strukturen, wie z. B. Ferrioxamin E, zeigen eine höhere  $\text{Fe}^{3+}$ -Affinität im Vergleich mit ihren offenkettigen Analoga. Diese Stabilitätserhöhung wird einem makrozyklischen Effekt zugeschrieben, der die chelatisierenden Gruppen in eine für die Koordination günstigere Konformation zwingt.

Enterobactin (**Abb. 2**) wurde bereits im Jahre 1970 von zwei unabhängigen Arbeitsgruppen [O'Brien *et al.*, 1970; Pollack *et al.*, 1970] isoliert. Als Trimer des *N*-(2,3-Dihydroxybenzyl)-serins besitzt es einen 12-gliedrigen Trilaktonring als Grundgerüst mit drei gleichartigen Catechol-tragenden Seitenketten und zeigt damit eine  $C_3$ -Symmetrie mit einer *delta*-Konfiguration.

Intensive Untersuchungen an Enterobactin und seinen Metallkomplexen zeigten, dass die hohe Siderophorstärke auf das chirale Trilaktongrundgerüst und die ideale Spacerlänge zur chelatisierenden Einheit zurückzuführen ist. Besonders das *D*-Isomer weist eine hohe Komplexstabilität auf, während das *L*-Isomer wenig Wirkung zeigt [Loomis 1991; Winkelmann 1991; Ecker *et al.*, 1986; Ecker *et al.*, 1988; Armstrong & McIntosh, 1995; Newton *et al.*, 1997; Raymond *et al.*, 1987; Cohen *et al.*, 1998].



**Abb. 2: Struktur des Enterobactins und des Desferrichroms**

Der eigentliche Mechanismus des durch Enterobactin vermittelten Eisentransports ist jedoch noch nicht vollständig aufgeklärt, da die Chemie des Enterobactins in Lösung Schwierigkeiten bereitet. Dies liegt vor allem an der raschen Hydrolyse des Trilaktongerüsts, der Unlöslichkeit des ungeladenen  $\text{Fe}^{3+}$ -Komplexes und der extremen Empfindlichkeit der Catecholeinheiten gegenüber Luftoxidation unter basischen Bedingungen. Das zyklische Trilaktongrundgerüst des Enterobactins wurde bei neuen Strukturanaloga beispielsweise durch *cis*-1,5,9-Triaminocyclododecan [Corey & Hurt, 1977], 1,3,5-Tris(aminomethyl)benzol [Weitl & Raymond, 1979] und einigen Lysinderivaten [Chimiak & Neilands, 1984; Akiyama & Ikeda, 1995] ersetzt. In einigen Arbeiten wurden dafür auch Cyclitole, wie z. B. Inosit verwendet [Tse & Kishi, 1993; Schnabelrauch *et al.*, 1998].

Die Desferrichrome (siehe **Abb. 2**), eine Gruppe strukturell verwandter Siderophore aus Pilzen, gehören aufgrund ihrer höheren Stabilität zu den bestuntersuchten Siderophorsystemen [Winkelmann 1991]. Sie besitzen ein zyklisches Hexapeptidgrundgerüst aus einer Tripeptidsequenz von *N*<sup>d</sup>-Acyl-*N*<sup>d</sup>-hydroxy-*L*-ornithin. Die chelatisierenden Hydroxamatgruppen sind an den Enden von drei Seitenketten positioniert, die asymmetrisch aus dem Grundgerüst ragen. Aus kristallographischen Daten des an seinen Rezeptor gebundenen Ferrichroms konnte geschlossen werden, dass die Carbonyl-Sauerstoffatome im Peptidring, wie auch die exozyklischen Sauerstoffatome während des Rezeptorerkennungsprozesses Wasserstoffbrückenbindungen mit dem Protein eingehen [Van der Helm, 1998; Hider *et al.*, 1984; Barchini & Cowart, 1996; Vartivarian & Cowart, 1999; Yun *et al.*, 2000; Brickman *et al.*, 1992; O'Brien *et al.*, 1971].



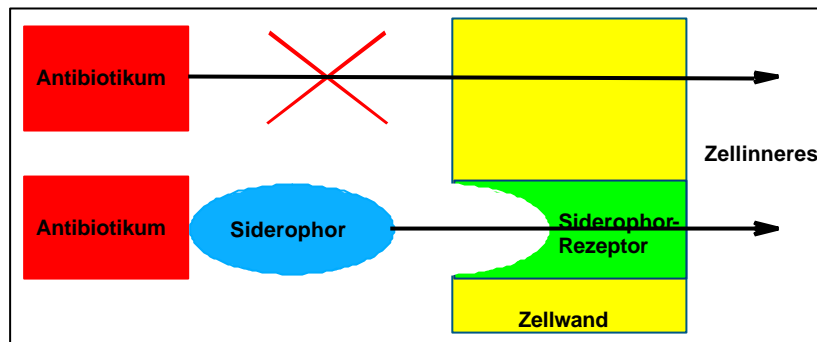
Erst kürzlich wurde eine weitere wichtige Familie der natürlichen Catechol-Siderophore, die so genannten Salmocheline von Hantke *et al.* [2003] entdeckt und strukturell aufgeklärt [Bister *et al.* 2004]. Hierbei handelt es sich um Siderophore, die aus 2,3-Dihydroxybenzoylserin-(DHBS)-Einheiten bestehen und linear über Glucosemoleküle verbrückt sind oder deren Catecholate mit den Zuckern über Etherbindungen verknüpft sind. Sie entstehen in Gegenwart von *iro*-Genclustern in *S. enterica*, welche eine Glucosylierung von Enterobactin-DHBS-Einheiten fördern. Das hydrophobe Enterobactin wird durch die Zuckermoleküle hydrophiler und kann somit andere Struktur-Wirkungsmechanismen des Eisenaufnahmesystems nutzen.

Besonderes Interesse weckten natürliche und synthetische Siderophore aufgrund möglicher antimikrobieller Wirkungen. Im Verlauf einer Bakterieninfektion spielt die Konkurrenz zwischen Wirts- und Bakterienzelle um das vorhandene Eisen eine entscheidende Rolle. Unter Eisenmangelbedingungen beginnt der Mikroorganismus mit der Exkretion von Siderophoren, um sich damit den Eisengehalt des Wirtsorganismus nutzbar zu machen.

Sehr effektive Chelatoren können andererseits pathogenen Keimen das für ihr Wachstum essentielle Eisen entziehen. Dieser Entzug kann entweder durch kompetitive Eisenchelatisierung oder durch Blockierung der Eisen-Siderophor-Rezeptoren durch ein nonfunktionelles Siderophor-Analogon erfolgen. So zeigten Untersuchungen, dass Eisen eine essentielle Rolle im Bakterienwachstum, insbesondere des Malaria-Erregers *Plasmodium falciparum*, spielt. Siderophore als antimikrobielle Verbindungen haben so in den letzten Jahren speziell als Zusatztherapeutika zu den Malariamedikamenten Interesse gefunden [Cabantchik, 1995; Cabantchik, 1999; Pradines *et al.*, 1996; Loyevsky *et al.*, 1993; Shanzer *et al.*, 1991]. Eine andere Möglichkeit für die Eisenlimitierung besteht darin, dem pathogenen Mikroorganismus das natürliche Siderophor anzubieten, welches jedoch an ein metabolisch unbrauchbares Metallion gebunden ist. Ein Beispiel hierfür wäre die Wirkung des Mycobactins [Xu & Miller, 1998; Hu & Miller, 1997].

Als eine weitere Anwendung für Siderophore wäre ihr Einsatz als Antibiotikavektor zur Einschleusung in die Bakterienzelle nach dem Prinzip des „trojanisches Pferd“ (**Abb. 3**) zu nennen. Hierbei wird das Siderophor, eventuell über einen Spacer, an einen antimikrobiellen Wirkstoff gebunden. Diese Siderophor-Wirkstoff-Konjugate können den üblichen Siderophor-Transportweg in die Zelle nutzen. In der Zelle kann der Wirkstoff nun seine Aktivität entfalten. Diese Art des Transportes in die Zelle ist besonders für Therapeutika interessant, die die Zellmembran sonst nicht durchdringen können. Die ersten synthetisierten Siderophor-Wirkstoff-Konjugate waren kovalent an Siderophore gebundene Sulfonamide, die

jedoch antibakteriell unwirksam waren [Zähler & Diddens, 1977]. Inzwischen wurde auch eine ganze Reihe von wirksamen Catechol-*b*-Lactam-Derivaten hergestellt. Die gute Wirksamkeit beschränkte sich jedoch vor allem auf gramnegative Bakterien. Die bislang wirksamsten Konjugatverbindungen bestanden aus sekundären Diaminosäuren und Acyloxy-Catecholaten [Heinisch *et al.*, 2002b; Heinisch *et al.*, 2003].



**Abb. 3: Wirkprinzip der Siderophor-Antibiotika-Konjugate**

Des Weiteren wurde die Kopplung antifungaler Substanzen an Ferrisiderophore untersucht [Bergeron *et al.*, 1983; Miller & Malouin, 1993; Roosenberg *et al.*, 2000; Miller, 1989; Roosenberg & Miller, 2000]. Diese Konjugate waren ebenfalls nur schwach wirksam.

Für Mycobactin-verwandte Siderophore wurde außerdem Antitumor-Aktivität festgestellt, deren Wirkungsmechanismus jedoch noch nicht bekannt ist. Die Bedeutung der Eisenassimilation für das Tumorstadium bzw. seine Inhibierung sind noch weitgehend ungeklärt und gegenwärtig Gegenstand ausführlicher Untersuchungen [Matzanke *et al.*, 1997; Matzanke *et al.*, 1999].

Im Menschen ist Eisen entweder extrazellulär an die Proteine Transferrin (Serum) und Laktoferrin (Schleimhäute) oder interzellulär an das Speicherprotein Ferritin gebunden. In infizierten Geweben sezernieren Leukozyten das  $\text{Fe}^{3+}$ -bindende Protein Laktoferrin und halten dadurch die Eisenkonzentration gering. Dieses erzeugt eine körpereigene Abwehrreaktion gegen Bakterieninfektionen [Ratledge & Dover, 2000].

Hämosiderose und die im Mittelmeerraum häufig anzutreffende Thalassämie sind Krankheiten, die auf Eisenüberladung beruhen und ohne Therapie meist tödlich verlaufen. Gegenwärtig ist das wirksamste Medikament Desferal® (Desferrioxamin B), welches das überschüssige Eisen komplexiert und aus dem Körper schleust. Patienten, die mit Desferal behandelt werden, gelten jedoch als Risikopatienten, da Desferal auch den im Darm

ansässigen *Y. enterocolitica*-Stämmen das notwendige Eisen entziehen kann und damit eine Yersinia-Septikämie hervorrufen kann [Rabsch & Reissbrodt, 1992; Singh, 1994].

## 2.2 Eisen-Siderophor-Komplexbildung

Die Stärke der Eisen-Siderophor-Bindung wird durch die Affinität der Siderophore zu Eisen(III) unter physiologischen Bedingungen und die Stabilität der entstandenen Komplexe bestimmt. Sauerstoff besitzt eine hohe Affinität zum Eisenion. Die effektivsten Siderophore sind daher sechszählige Liganden, welche durch ihre Hydroxygruppen eine vollständige oktaedrische Koordination eines Eisenions ermöglichen. Zusätzlich wird der entropische Effekt minimiert, der z. B. durch mehrere zweizählige Liganden verursacht würde, um ein einzelnes Eisenion zu chelatisieren. In einigen Fällen sind trotzdem drei zweizählige Liganden an der Komplexbildung eines Eisenions beteiligt [Miller, 1989].

Die thermodynamische Stabilitätskonstante eines Siderophor-Eisen-Komplexes charakterisiert die Bindungsstärke zwischen Siderophor und Eisenion. Generell gilt, dass mit der Bindungsstärke des Komplexes auch der Wert für die Stabilitätskonstante wächst. Zur Bewertung der Eisenaufnahmefähigkeit verschiedener Siderophore reicht ein direkter Vergleich der Stabilitätskonstanten allein nicht aus. So liegt z. B. die thermodynamische Stabilitätskonstante von Enterobactin bei  $10^{52}$  und die von Aerobactin bei  $10^{23}$  [Bagg & Neilands, 1987]. Die Werte beziehen sich auf eine vollständige Deprotonierung des Liganden. Sie spiegeln jedoch nicht ihre Konkurrenzfähigkeit in der Eisenaufnahme unter physiologischen Bedingungen wider [Harris *et al.*, 1979; Hider, 1984].

Studien von Raymond und Mitarbeitern haben gezeigt, dass ein relevanter Vergleich erst durch die Bestimmung von weiteren Parametern möglich ist. Ein wichtiges Kriterium ist die Konzentration des freien Eisens in einer Lösung, welche über den  $p[M]$ -Wert bestimmt werden kann. Mit diesem Wert kann die maximale Eisenaufnahmefähigkeit eines Siderophors festgestellt werden. So besitzt Enterobactin bei einem pH-Wert von 7,4 einen  $p[M]$ -Wert von 37 und Aerobactin einen  $p[M]$ -Wert von 25 bei einer Konzentration von  $10^{-3}$  M Ligand und  $10^{-6}$  M Metall. Aerobactin zeigt eine signifikant höhere Selektivität der Wachstumsförderung von *E. coli* unter Eisenmangelbedingungen als Enterobactin. Somit muss ein Vergleich der Siderophoraktivität immer unter der Betrachtung der Löslichkeit, Stabilität und Eisenaufnahmefähigkeit des Siderophors betrachtet werden [Roosenberg *et al.*, 2000].

## 2.3 Eisentransportmechanismen

Die Eisenaufnahme in eine gramnegative Bakterienzelle nach dem Siderophormechanismus kann in drei Abschnitte eingeteilt werden: die Bindung des  $\text{Fe}^{3+}$  an das Siderophor, der Transport des  $\text{Fe}^{3+}$ -Siderophorkomplexes durch die Zellmembran und die Freisetzung des Eisens in der Zelle. Mykobakterien dagegen zeigen einen biphasischen Eisentransportmechanismus. Sie produzieren extrazellulär Siderophore, so genannte Exocheline, welche aus dem äußeren Medium Eisenionen entziehen und sie zu Mycobactin-assoziierten Zellmembranen transportieren. Mycobactin übernimmt das  $\text{Fe}^{3+}$  und transportiert es anschließend in die Zelle [Ratledge, 1999].

### 2.3.1 Transportmechanismus in gramnegativen Bakterien

Der Transport der  $\text{Fe}^{3+}$ -Siderophor-Komplexe durch die Zellmembran ist noch nicht vollständig aufgeklärt. Aufgrund ihres hydrophilen Charakters können die Ferrisiderophore nicht durch einfache Diffusion in die Zelle aufgenommen werden.

In gramnegativen Bakterien wird der  $\text{Fe}^{3+}$ -Siderophor-Komplex zuerst von spezifischen Rezeptoren der äußeren Zellmembran, den Iron Outer Membrane Proteins (IROMP), selektiv und strukturspezifisch erkannt.

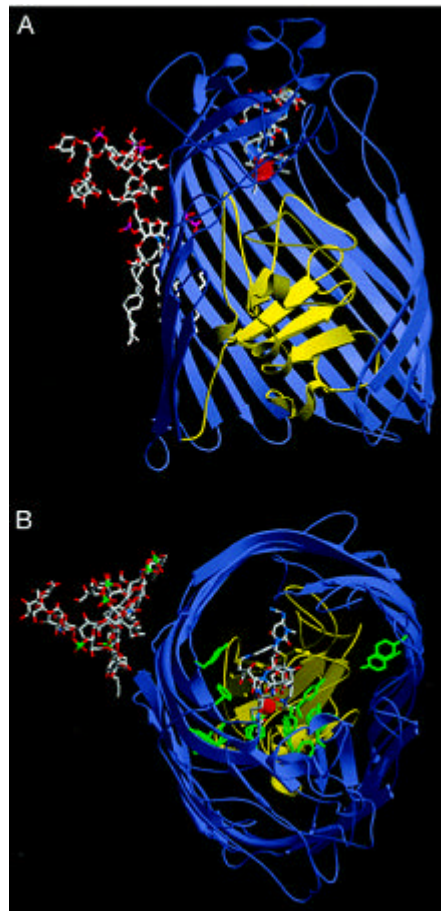
Ungeachtet der Chiralität der Liganden komplexieren Siderophore  $\text{Fe}^{3+}$  und erzeugen ein neues chirales Zentrum am Metallion. Zum Beispiel können Hydroxamate sowohl links- als auch rechtshändige oktaedrische Komplexe bilden. Obwohl diese zwei Komplexe unter physiologischen und kinetischen Bedingungen in einem Gleichgewicht vorliegen, ist die Chiralität am Metallzentrum entscheidend bei der Rezeptorerkennung. In den meisten Fällen können die Rezeptoren nur ein bestimmtes Stereoisomer erkennen [Shanzer *et al.*, 1998].

Untersuchungen biologischer Aktivitäten von artifiziellen Eisenchelatoren haben gezeigt, dass es zwei Bindungsregionen bei der Siderophor-Rezeptor-Interaktion gibt. Die erste Domäne ist die Region der koordinativen Bindung des Eisenions an das Siderophor, der eigentliche Eisenkomplex. Sie spielt eine entscheidende Rolle in der Rezeptorerkennung und reagiert sensibel auf mögliche strukturelle Veränderungen. Die zweite Domäne ist die des peripheren Siderophoraufbaus. Diese ist gegenüber strukturellen Modifikationen wesentlich weniger empfindlich. Vorteilhaft wirken sich Strukturgruppen aus, die die Bindungsstärke des Eisenkomplexes erhöhen und die Stabilität des gesamten Siderophorkomplexes vergrößern [Shanzer *et al.*, 1991].

Die zweite Domäne bietet also vielfältige Möglichkeiten des Strukturdesigns neuer synthetischer Siderophore. Der Strukturaufbau sollte dabei so konzipiert werden, dass das

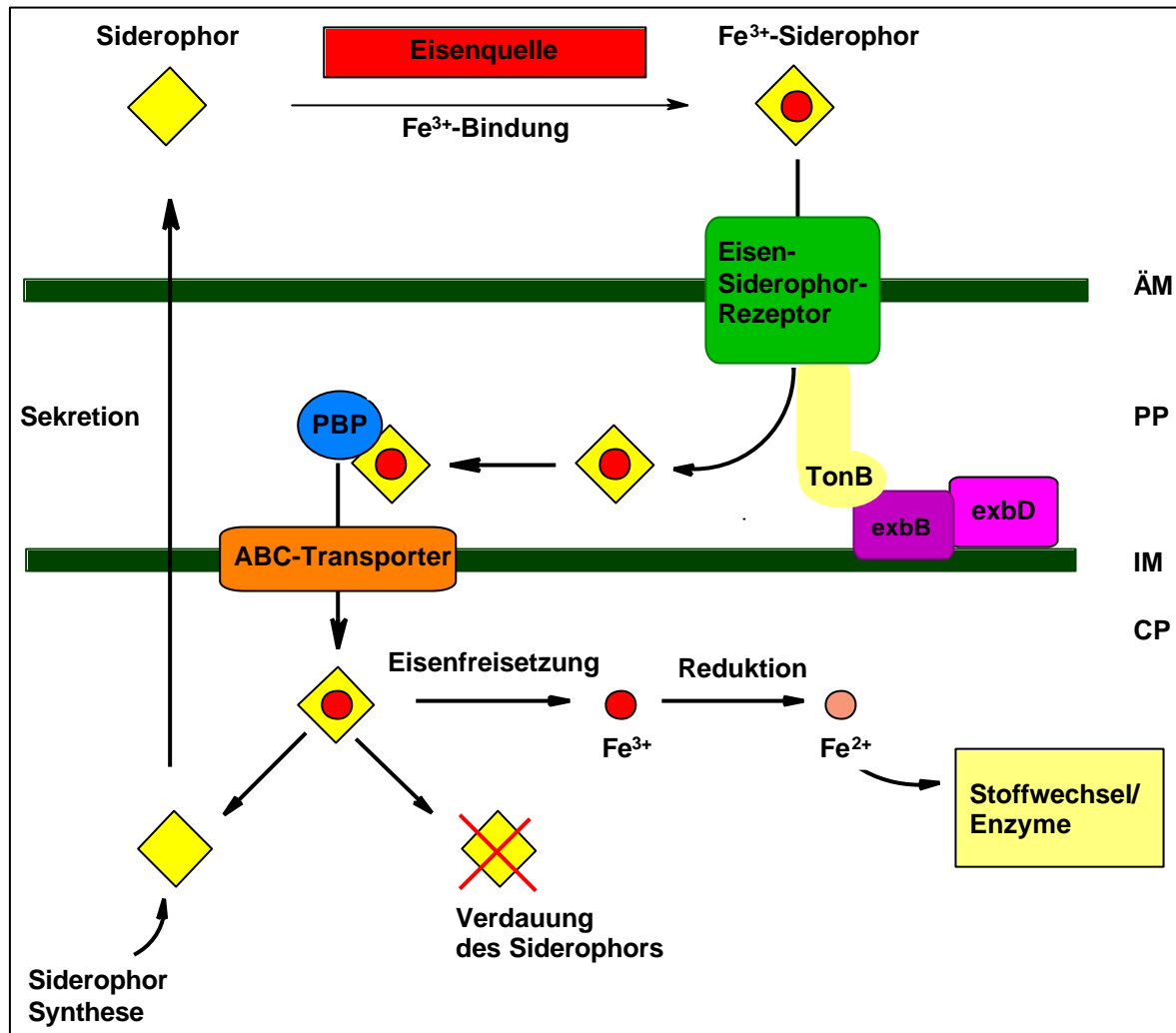
Grundgerüst die Möglichkeit bietet, über drei funktionelle Gruppen wie z. B. Ether oder Ester eine dreiarmlige Siderophortopologie aufzubauen. Länge und Struktur der Linker zur chelatisierenden Einheit spielen ebenfalls eine wichtige Rolle bei der Bioaktivität der Siderophore. So bewirken längere Spacer eine höhere Beweglichkeit des Moleküls und somit die Möglichkeit einer idealen Koordination des Chelators zum Eisenion. Der Einbau von chiralen Linkern, wie z. B. Aminosäuren kann ebenfalls einen Einfluss auf die biologische Aktivität erwarten lassen.

Bei *E. coli* konnten durch Röntgenstrukturanalyse zwei Membranrezeptoren für einen Ferrichromrezeptor FhuA und einen Enterobactinrezeptor FepA identifiziert werden. Die Strukturen dieser Membranproteine lassen auf einen spezifischen Transportmechanismus der Metallsiderophore durch die Membran schließen. Der vorgeschlagene Mechanismus geht davon aus, dass das FepA wie ein Pumpensystem mit zwei Öffnungen funktionieren kann. Die erste Öffnung ist wie eine extrazelluläre Schlaufe geformt, welche den Liganden erkennt und an das Protein bindet. Nach der Bindung schließt sich der Rezeptor zur extrazellulären äußeren Membran (**Abb. 4** Teil A). Die zweite Öffnung wird durch eine N-terminierte Domäne in Form einer Tonne gebildet. Eine Interaktion zwischen Ligandbindung und einem TonB-Protein öffnet einen Kanal zur periplasmatischen Seite der Membran (**Abb. 4** Teil B). Die Kanalbildung erfolgt durch Konformationsänderungen oder durch die Bewegung der N-terminierten Domäne des Proteins. Dieses Schleusensystem verhindert das Fließen von Ionen und kleinen Molekülen in beide Richtungen des Kanals; ein Problem, welches sich bei Modellen mit einer permanenten Öffnung einstellen würde.



**Abb. 4: Anlagerung von Eisen-Siderophor-Komplexen an Eisenrezeptorproteine**

Die TonB-Proteine in der cytoplasmatischen Membran bilden zusammen mit den ExbB- und ExbD-Proteinen einen TonB-ExbB-ExbD-Komplex [Larsen *et al.*, 1996], der für die Energievermittlung von der inneren Membran zu den Rezeptoren notwendig ist (**Abb. 5**). Auslöser eines Energieimpulses ist eine bestimmte TonB-Konformation, die eingenommen wird, wenn ein Rezeptorprotein der äußeren Membran einen Eisen-Siderophor-Komplex gebunden hat. Der weitere Transport findet über periplasmatische Bindeproteine (PBP) und ABC-Transporter (ATP-Binding-Cassette-Transporter) der Cytoplasmamembran statt [Braun, 1997; Buchanan *et al.*, 1999]. Die Transportproteine erkennen Siderophore nur unspezifisch und dienen zusätzlich zum Transport anderer Moleküle [Braun *et al.*, 1998; Earhart, 1996]. Die für den Transportprozess benötigte Energie wird durch ATP-Hydrolyse bereitgestellt.



**Abb. 5: Schematische Darstellung eines Siderophor-vermittelten Eisentransports in gramnegativen Bakterien**, PBP: periplasmatisches Bindeprotein; ÄM: äußere Membran; IM: innere Membran; CP: Cytoplasma; PP: Periplasma; ABC-Transporter: ATP-Binding-Cassette-Transporter

Der Eisen-Enterobactin-Komplex wird vorwiegend über den FepA-Rezeptor in *E. coli* aufgenommen, während lineare Analoga wie Eisen-Dihydroxybenzoylserin (DHBS)<sub>n</sub> mit n = 1, 2, 3 über Fiu, Cir und IroN eingeschleust werden. Cir, Fiu und IroN sind weitere Siderophorrezeptoren der äußeren Membran, welche vorwiegend auf die Catecholkomplex-Erkennung programmiert sind.

FhuA ist ein weiteres gut untersuchtes Rezeptorprotein und für die Erkennung von Hydroxamat-Siderophoren verantwortlich [Wayne & Neilands, 1975]. Die Topologie von FhuA zeigt ebenfalls verschiedene Ligandbindungsbereiche, die räumlich im Rezeptor verteilt sind und auf einen organisierten Transport hindeuten.

### 2.3.2 Eisentransport in Mykobakterien

Der biphasische Eisentransport in die Mykobakterienzelle ist durch die Biosynthese verschiedener Siderophore gekennzeichnet. Die extrazellulär produzierten Exocheline nehmen  $\text{Fe}^{3+}$ -Ionen auf und transportieren diese als Komplex zur Zellmembran des Mykobakteriums [Rodriguez & Smith, 2003]. Hier wird das Eisen nach einem noch nicht geklärten Mechanismus durch das intrazellulär agierende Mycobactin übernommen und in die Zelle geschleust.

Mycobactine entsprechen Salicylat-Siderophoren, während Exocheline aus Peptidmolekülen bestehen. Mycobactine existieren in zwei Formen, welche sich in der Länge ihrer Alkyl-Substituenten, sowie in ihrer Löslichkeit und Polarität unterscheiden. Die weniger polare Form, das Mycobactin, agiert nur intrazellulär, während die polarere Verbindung, das Carboxymycobactin ins Medium ausgeschieden wird.

Der Einsatz von Siderophoren als Antibiotikavektor zur Überwindung von Zellmembranen ist bei Mykobakterien aufgrund des zweiphasigen Exochelin/Mycobactin-Mechanismus nicht praktikabel [Ratledge 1999; De Voss *et al.*; 1999, Rodriguez & Smith, 2003]. Hierzu würden ausschließlich Siderophore benötigt, die eine höhere Affinität zu  $\text{Fe}^{3+}$ -Ionen besitzen als Exochelin und in der Lage sind, das Eisen direkt in die Bakterienzelle zu transportieren. Um dennoch solche unabhängigen Siderophorverbindungen zu finden, müssen Mutanten von *M. smegmatis* mit einem Exochelin/Mycobactin-Defizit verwendet werden [Schumann *et al.*, 1998; Schumann & Möllmann, 2001].

Natürliche Siderophore wie Aerobaktin und andere Hydroxamate [Schumann & Möllmann, 2001], synthetische Biscatechol-Siderophore mit Diaminosäuregrundstruktur [Schnabelrauch *et al.*, 2000], Triscatecholate von Triaminen [Heinisch *et al.*, 2002a] und Ferrichrome [Lin *et al.*, 2001] sind in der Lage, diese Funktion zu übernehmen.

Interessante neue Verbindungen auf der Basis von Monosacchariden sollten ebenfalls diese hohe Eisenaffinität besitzen, um die Zellmembran von Mykobakterien zu überwinden.



## 2.4 Freisetzung von Eisen

Kinetische „*in vitro*“-Untersuchungen für die Protonen-vermittelte Eisenfreisetzung aus Ferrisiderophoren zeigten einen Mechanismus, bei dem die Freisetzung des Eisens in einem ersten Schritt durch Dissoziation einer zweizähligen Einheit vom vollständig koordinierten  $\text{Fe}^{3+}$  eingeleitet wird. Die dadurch frei gewordenen Koordinationsstellen werden dabei durch Wasserliganden ersetzt. Hierdurch wird die Bindungsaffinität des Siderophors zum  $\text{Fe}^{3+}$  verringert und durch weitere Dissoziationsprozesse gelingt die Freisetzung des  $\text{Fe}^{3+}$  [Boukhalfa & Crumbliss, 2002].

Unter physiologischen Bedingungen muss die Freisetzung des Eisens jedoch auf anderem Wege erfolgen, da die Protonenkonzentration in der Zelle für den o.g. Mechanismus nicht ausreicht. Ein wichtiger Hinweis auf den „*in vivo*“-Mechanismus war, dass Siderophore  $\text{Fe}^{3+}$  zwar sehr fest binden, jedoch nur eine schwache Komplexierung des  $\text{Fe}^{2+}$ -Ions zeigen. Dieser Unterschied in der Affinität der Siderophore gegenüber  $\text{Fe}^{3+}$ - und  $\text{Fe}^{2+}$ -Ionen kann durch den Lewisäure-Charakter der beiden Spezies erklärt werden.  $\text{Fe}^{3+}$  als starke Lewisäure bevorzugt die Hexakoordinierung durch harte Donoren wie Sauerstoff. Im Gegensatz dazu gilt  $\text{Fe}^{2+}$  als wesentlich schwächere Lewisäure und besitzt eine stärkere Affinität zu polarisierbaren Liganden. Die Stabilität der  $\text{Fe}^{2+}$ -Siderophor-Komplexe ist um ca. 20 Größenordnungen geringer als die der entsprechenden  $\text{Fe}^{3+}$ -Verbindungen. „*In vivo*“ erfolgt die Freisetzung des Eisens in der Zelle daher wahrscheinlich über die Reduktion des Eisens und die anschließende Dissoziation des wesentlich instabileren  $\text{Fe}^{2+}$ -Siderophor-Komplexes. Das im Cytoplasma freigesetzte Eisen kann in verschiedene Proteine eingebaut werden. Bisher ist nur ein Protein bekannt, das Eisen spezifisch vom Siderophor trennt. Fes (ferric enterochelin esterase) setzt Eisen aus dem *E. coli*-Siderophor Enterochelin frei [Brickman & McIntosh, 1992; Schubert *et al.*, 1999]. Bei hoher intrazellulärer Eisenkonzentration bindet  $\text{Fe}^{2+}$  an den Aporepressor Fur (ferric uptake regulator). Der  $\text{Fe}^{2+}$ -Fur-Komplex bindet dann an die Fur-Box, die in der Promotorregion von eisenregulierenden Genen liegt und inhibiert die Transkription dieser Gene [Escolar *et al.*, 1999; Hantke, 1981]. Unter Eisenmangel löst sich dieser Komplex und die Transkription der eisenregulierenden Gene kann stattfinden.

Es existieren zwei Arten des Siderophor-vermittelten Eisentransports. Im ersten Fall wird der eisenbindende Ligand vollständig zurückgewonnen. Das Ferrisiderophor wird in die Zelle transportiert, setzt dort das Eisen frei und wird wieder aus der Zelle ausgeschleust, um für einen neuen Zyklus des Eisentransportes zur Verfügung zu stehen. Der zweite Typ verläuft unter Zerstörung des Siderophors. Hierbei muss die Zelle die Reste des Siderophors verdauen, um das Eisen freizusetzen. Die Untersuchung der Struktur des Liganden im

Hinblick auf seine Toxizität ist daher von entscheidender Bedeutung. Viele Siderophore besitzen Peptide als Grundstrukturen. Diese sind im Körper gut abbaubar [Crichton, 2001; Boukhalfa & Crumbliss, 2002].

Bei der Synthese analoger Verbindungen bieten sich daher Monosaccharide aufgrund ihrer Struktur und ihrer guten biologischen Eigenschaften an und bieten ein weites Feld der Siderophorforschung.

Zucker sind im Allgemeinen für den menschlichen Organismus ungefährlich. Weiterhin besitzen sie eine Vielzahl chiraler Zentren. Die Reaktivität der funktionellen Hydroxygruppen ist bereits gut untersucht worden und sie eignen sich sehr gut für den Einbau von chelatisierenden Gruppen über Spacer.

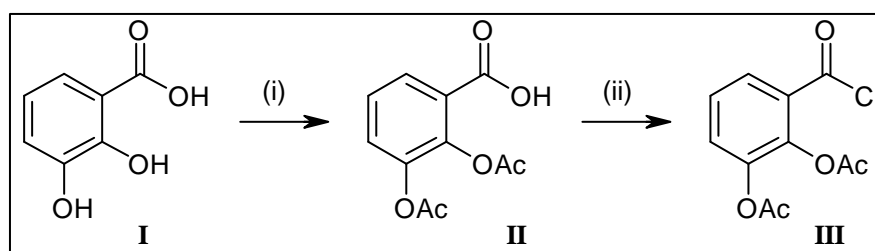
### 3. ERGEBNISSE UND DISKUSSION

#### 3.1 Synthesen

##### 3.1.1 Synthese der Catechol- und Hydroxamat-Ligandeneinheiten

Die Darstellung der verschiedenen Ligandeneinheiten ist bereits in der Literatur beschrieben worden und wird hier noch einmal aus Gründen der Übersichtlichkeit und der besseren Verständlichkeit angeführt. Neben den freien Catecholaten und Hydroxamaten wurden als deren synthetische Vorstufen entsprechend azyklische Verbindungen verwendet, die nach bisherigen Erfahrungen ebenfalls gute Siderophorwirkungen zeigen können [Heinisch *et al.*, 2002 a]. Diese azyklischen Verbindungen werden vermutlich am Ort der Bakterienvermehrung durch Acylasen in die freien Verbindungen gespalten. Sie dienen somit als Transportvektoren für Siderophore und besitzen möglicherweise bessere pharmakologische Eigenschaften [Heinisch *et al.*, 2002 b]. Als solche azyklische Verbindungen wurden *O*-Acyl- oder *O*-Methoxycarbonylcatecholate sowie 8-Methoxycarbonyloxy-1,3-benzoxazin-2,4-dione als heterozyklisch verbrückte Catecholate sowie *N*-Benzyloxy-Hydroxamate eingesetzt. Als Ausgangsstoffe wurden entsprechende 2,3- bzw. 3,4-Di-(acyloxy)benzoylchloride verwendet.

Für die Synthese des 2,3-Di-(acetoxy)benzoylchlorids **III** [Rastetter, 1981] und des 3,4-Di-(methoxycarbonyloxy)benzoylchlorids **VI** [Heinisch *et al.*, 1992] wurden die phenolischen Hydroxygruppen der Ausgangsverbindungen 2,3-Dihydroxybenzoesäure **I** und 3,4-Dihydroxybenzoesäure **IV** erst mit Essigsäureanhydrid bzw. Methylchlorformiat acetyliert oder methoxyliert. Anschließend erfolgte die Überführung in das Säurechlorid mit  $\text{PCl}_5$  in einer Tetrachlormethanlösung (siehe **Abb. 6** und **7**).



**Abb. 6:** Synthese von 2,3-Di-(acetoxy)benzoylchlorid,  
(i)  $\text{Ac}_2\text{O}/\text{H}^+$ , Diethylether; (ii)  $\text{PCl}_5$ ,  $\text{CCl}_4$

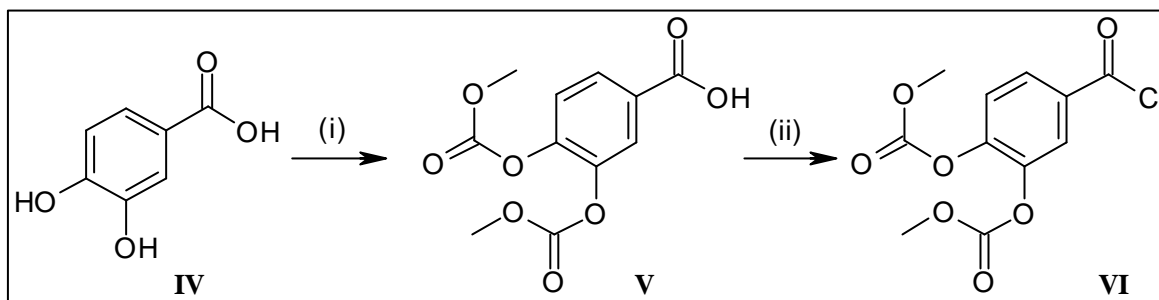


Abb. 7: Synthese von 3,4-Di-(methoxycarbonyloxy)benzoylchlorid (i)  $\text{ClCOOCH}_3$ , 2 M NaOH,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $0^\circ\text{C}$ ; (ii)  $\text{PCl}_5$ ,  $\text{CCl}_4$

2,3-Di-(acetoxy)phenoxyacetylchlorid **X** wurde nach einer Vorschrift von Egbe [1995] aus Pyrogallol **VII** und Monochloressigsäure gewonnen. Die daraus resultierende 2,3-Dihydroxyphenoxyessigsäure **VIII** wurde wiederum mit Essigsäureanhydrid acetyliert und mit  $\text{PCl}_5$  in das entsprechende Säurechlorid überführt (Abb. 8).

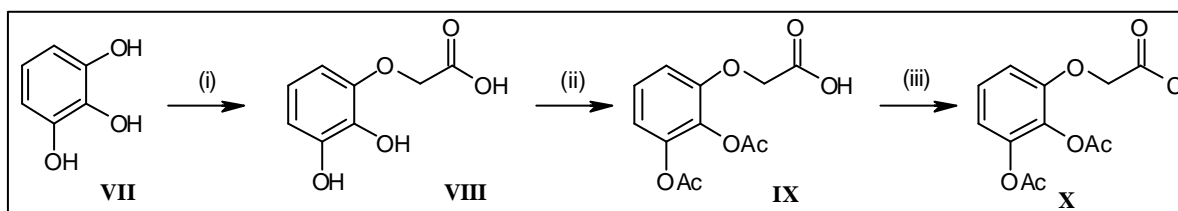


Abb. 8: Synthese von 2,3-Di-(acetoxy)phenoxyacetylchlorid **X** (i)  $\text{ClCH}_2\text{COOH}$ , 10 N NaOH (25% Ausbeute); (ii)  $\text{Ac}_2\text{O}/\text{H}^+$ , Diethylether; (iii)  $\text{PCl}_5$ ,  $\text{CCl}_4$

Für die Darstellung des 8-Methoxycarbonyloxy-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-1,3-benzoxazin-3-yl-acetylchlorids **XVI** und des 8-Methoxycarbonyloxy-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-1,3-benzoxazin-3-yl-propionylchlorids **XVII** wurde nach Wittmann und Mitarbeitern [2000] vorgegangen (Abb. 9). Hierbei wurde 2,3-Di-(methoxycarbonyloxy)benzoylchlorid **XIII** mit Glycin **XI** bzw. *b*-Alanin **XII** umgesetzt. Die Überführung in das Säurechlorid erfolgte mit  $\text{PCl}_5$ .

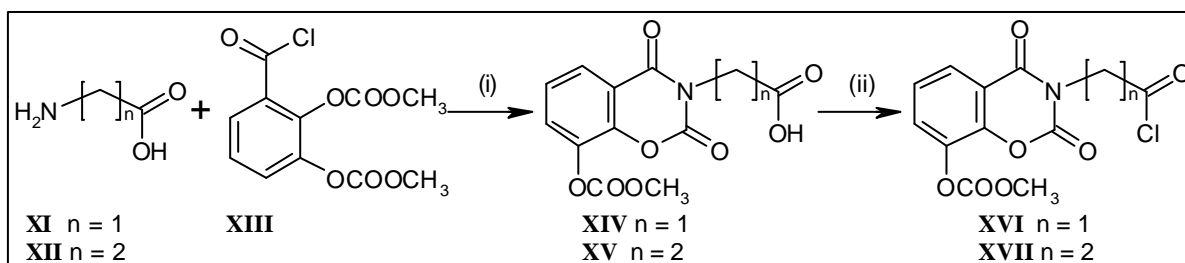
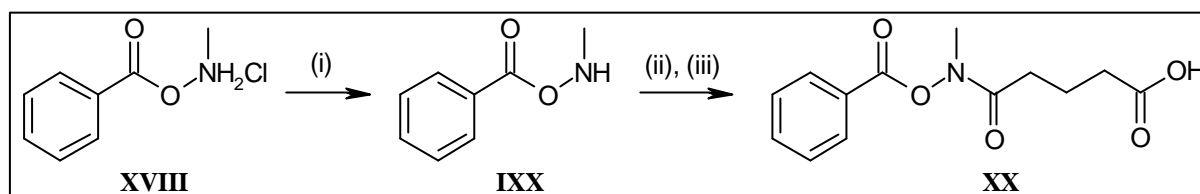


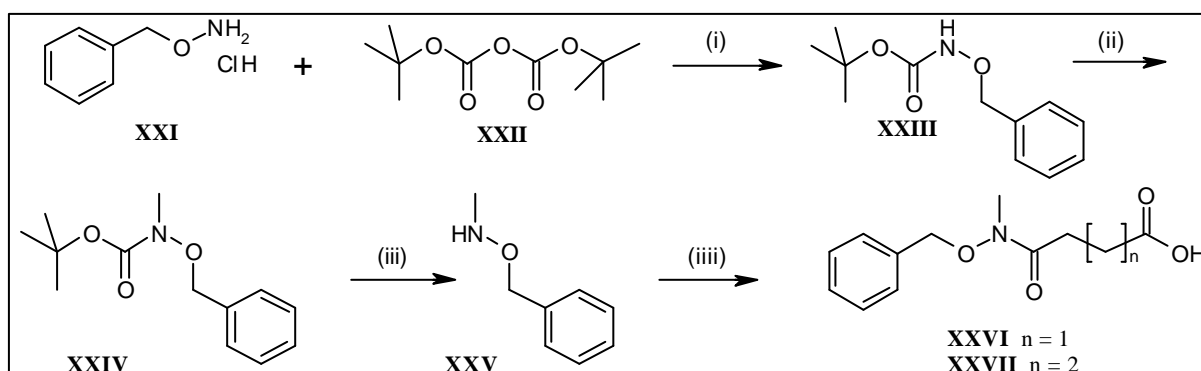
Abb. 9: Synthese von 8-Methoxycarbonyloxy-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-1,3-benzoxazin-3-yl-acetylchlorid **XVI** und 8-Methoxycarbonyloxy-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-1,3-benzoxazin-3-yl-propionylchlorid **XVII** (i) wässrige  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung, THF,  $0^\circ\text{C}$ ; (ii)  $\text{PCl}_5$ ,  $\text{CCl}_4$

Die Präparation der Hydroxamsäureverbindungen **XX**, **XXVI** und **XXVII** wurde in der Literatur bereits von Wittmann *et al.*, 2002 und Sharma *et al.*, 1989 beschrieben. *N*-Methyl-*N*-(benzoyloxy)monoglutaramid **XX** wurde aus *O*-Benzoyl-*N*-methylhydroxylammoniumhydrochlorid, das mit Natriumhydrogencarbonatlösung freigesetzt wurde, und Glutarsäureanhydrid gewonnen (**Abb. 10**).



**Abb. 10:** Synthese von *N*-Methyl-*N*-(benzoyloxy)monoglutaramid **XX** (i) Dioxan, 1 M wässrige  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung; (ii) TFA,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; (iii) Glutarsäureanhydrid TEA,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$

*N*-Methyl-*N*-(benzyloxy)glutaramid **XXVI** und *N*-Methyl-*N*-(benzyloxy)succinamid **XXVII** wurden in einer vierstufigen Synthese dargestellt. Dabei wurde *O*-Benzylhydroxylaminhydrochlorid mit Di-*tert.*-Butyldicarbonat in Dioxan und 1M wässriger Natriumhydrogencarbonatlösung zum *tert.*-Butyl-*N*-benzyloxycarbamat umgesetzt. Dieses wurde mit Natriumhydrid und Methyljodid methyliert. Die Abspaltung der Butoxycarbonylschutzgruppe erfolgte mit Trifluoressigsäure [Sulsky *et al.*, 1989]. Das entstandene *N*-Benzyloxy-*N*-methylamin wurde nun mit Glutarsäureanhydrid und Bernsteinsäureanhydrid in Gegenwart von Triethylamin und Dimethylaminopyridin zu **XXVI** und **XXVII** umgesetzt (**Abb. 11**).



**Abb. 11:** Synthese von *N*-Methyl-*N*-(benzyloxy)glutaramid **XXVI** und *N*-Methyl-*N*-(benzyloxy)succinamid **XXVII**, (i) Dioxan, 1 M wässr.  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung; (ii)  $\text{CH}_3\text{I}$ , NaH, DMF (abs.); (iii) TFA,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; (iiii) Glutarsäureanhydrid ( $n = 2$ ) bzw. Bernsteinsäureanhydrid ( $n = 1$ ), TEA,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$

### 3.1.2 Synthese von Biscatechol-Siderophor-Analoga

Aus der Literatur sind einige Biscatecholate wie *N,N'*-bis-(2,3-dihydroxybenzoyl)-*L*-lysin als wirksame bakterielle Siderophore bekannt [Corbin & Bulen, 1969]. Zur Synthese von Biscatecholaten mit Monosaccharidgrundgerüst wurde von Methyl-4,6-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **1** ausgegangen, das aus Methyl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid und Dimethoxypropan hergestellt wurde [Bazin *et al.*, 1995]. In der Ausgangsverbindung sind die Hydroxyfunktionen in Position 2 und 3 *trans*-ständig zueinander angeordnet. Aus der Reaktion von **1** mit 2,3-Di(acetoxy)benzoylchlorid **III** wurde die Verbindung Methyl-2,3-bis-*O*-[2,3-di(acetoxy)benzoyl]-4,6-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **2** erhalten [Descotes *et al.*, 1984].

Die Abspaltung der Isopropyliden-Schutzgruppe mit Essigsäure [Hanessian *et al.*, 1983] lieferte dann das gewünschte Biscatechol Methyl-2,3-bis-*O*-[2,3-di(acetoxy)benzoyl]- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **3** (Abb. 12).

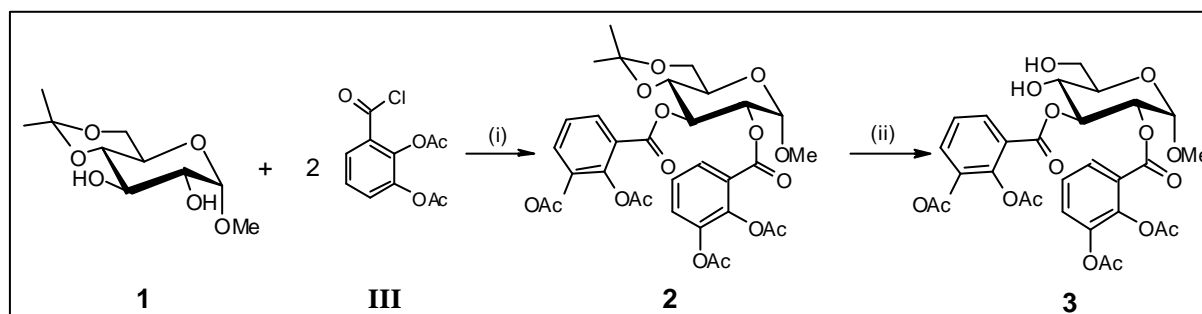


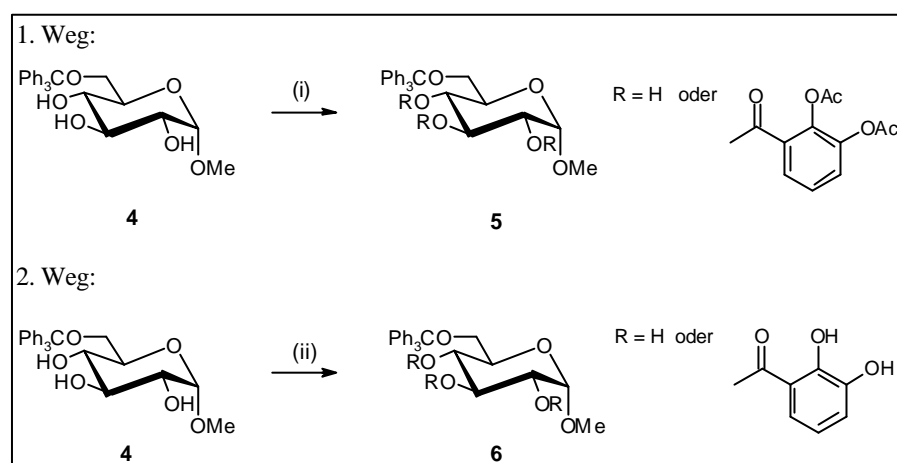
Abb. 12: Synthese der Biscatechol-Verbindung aus Methyl-4,6-*O*-isopropyliden- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **1** und 2,3-Di(acetoxy)benzoylchlorid **III**; (i) TEA, DMAP, THF, -20 °C, (ii) Essigsäure (98%), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, RT

### 3.1.3 Synthese von Triscatechol-Siderophor-Analoga

Die Triscatechol-Siderophor-Analoga mit Monosaccharidgrundgerüst wurden nach dem Vorbild des Enterobactins synthetisiert. Als Ausgangszucker wurden Methylglucopyranoside, Methylgalactopyranoside und Methylribopyranoside gewählt, die in Position 2, 3 und 4 mit den Catecholeinheiten verknüpft werden sollten.

#### 3.1.3.1 Triscatecholate mit Methyl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosidgrundgerüst

Zunächst wurde eine Synthese geplant, welche die direkte Veresterung der drei Alkoholsauerstoffe des Zuckers zum Ziel hatte. Hierfür wurde Methyl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid zuerst in 6-Stellung mit einer Tritylgruppe geschützt [Chaudhary *et al.*, 1979]. Das gewonnene Methyl-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **4** wurde auf unterschiedliche Arten verestert (**Abb. 13**).

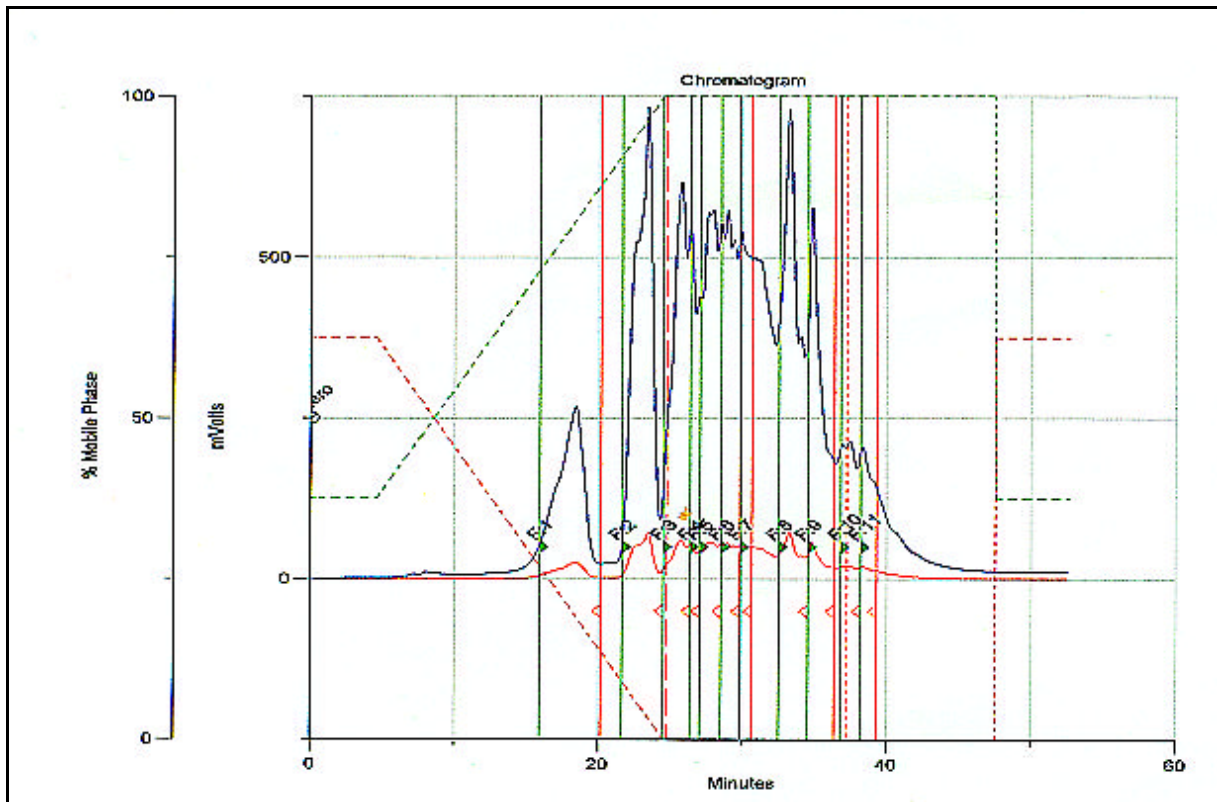


**Abb. 13:** Veresterungen von Methyl-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid

(i) 2,3-Di-(acetoxy)benzoylchlorid **III**; TEA, DMAP, THF,  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , RT  
 (ii) 2,3-Dihydroxybenzoesäure, DMAP, DCC,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , RT

Hierbei wurde nach dem Vorbild der Biscatecholverbindungen eine Reaktion des geschützten Zuckers mit 2,3-Di-(acetoxy)benzoylchlorid **III** durchführt. Das gewünschte Produkt Methyl-6-*O*-trityl-2,3,4-tris-*O*-[2,3-di-(acetoxy)benzoyl]- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **5** konnte jedoch aus einem Gemisch von dreifachen, zweifachen und einfachen Substitutionsprodukten nicht isoliert werden. Es wurden hierzu unterschiedliche HPLC-Gradiententrennungsgänge im System Acetonitril-Wasser durchgeführt (**Abb. 14**). Die gewünschte Substanz ließ sich jedoch nicht von ihren strukturverwandten Verbindungen abtrennen, die aufgenommenen Massenspektren der einzelnen Fraktionen zeigten kein reines Hauptprodukt. (**Abb. 15**). Deshalb wurde ein weiterer Ansatz verfolgt, der eine vollständige Veresterung mit einem Catechol vermuten ließ. Die Dihydroxybenzoesäure wurde über die Steglich-Methode [Neises & Steglich, 1978] mit dem tritylgeschützten Monosaccharid mit

Hilfe von Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und DMAP verestert. Doch auch hier konnte die Verbindung Methyl-6-*O*-trityl-2,3,4-tris-*O*-(2,3-dihydroxybenzoyl)- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **6** nicht in der gewünschten Reinheit isoliert werden.



**Abb. 14:** Chromatogramm einer HPLC-Trennung der Verbindung **6**;  
HPLC-Gradient: 40% ACN, 5 min; +3 %/min, 100% ACN 25 min,  
F = Fraktion 1-11



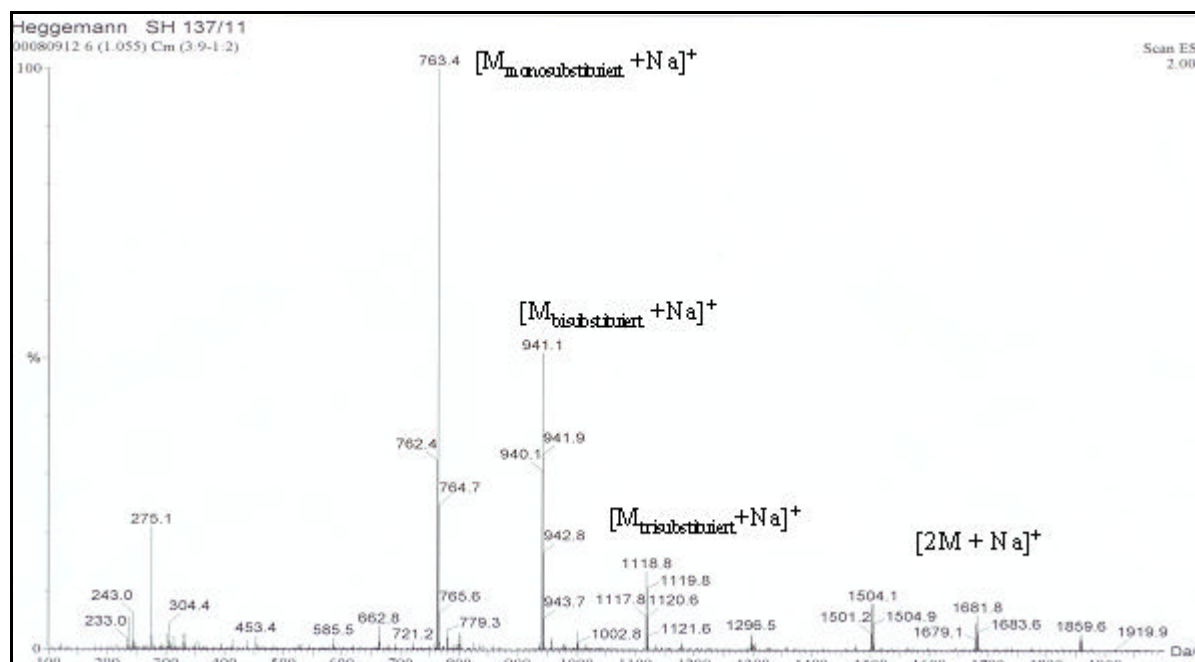


Abb. 15: ESI-Massenspektrum einer HPLC-Fraktion der Verbindung 6; Fraktion 11

Da die Synthesen zur direkten Verknüpfung der Catecholchelatoren mit der Glucosylverbindung offensichtlich nicht zum Erfolg führten, wurde der Schwerpunkt auf die Synthese von Catecholaten gesetzt, deren chelatisierende Einheiten über Spacer mit den Monosaccharidbausteinen verbunden waren.

Aus dem Methyl-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **4**, welches zuvor schon in dem Versuch der direkten Veresterung mit den *O*-Acylcatecholaten als Edukt verwendet worden war, wurde durch eine Michael-Cyanethylierung mit Acrylnitril und Kaliumhydroxid Methyl-2,3,4-tri-*O*-(2-cyanoethyl)-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **7** hergestellt [Bazin *et al.*, 1995]. Die Hydrierung der letztgenannten Verbindung mit  $\text{Co}_2\text{B}$  und  $\text{NaBH}_4$  ergab das Methyl-2,3,4-tri-*O*-(3-aminopropyl)-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **8** als zentrale Ausgangssubstanz für die Verknüpfung mit verschiedenen Chelat-Gruppen. Für die Darstellung des Katalysators  $\text{CoB}_2$  wurde eine methanolische Lösung von  $\text{CoCl}_2$  mit Natriumborhydrid umgesetzt [Ambrosi *et al.*, 1998].

Durch die Umsetzung von **8** mit Triethylamin, DMAP und einem Überschuss von 2,3-Di-(acetoxy)benzoylchlorid **III** bzw. 3,4-Di-(methoxycarbonyloxy)benzoylchlorid **VI** in absolutem Tetrahydrofuran konnten die Produkte Methyl-2,3,4-tris-*O*-{*N*-[2,3-di-(acetoxy)benzoyl]-3-aminopropyl}-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **9 a** und Methyl-2,3,4-tris-*O*-{*N*-[3,4-di(acetoxy)benzoyl]-3-aminopropyl}-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **9 c** erhalten werden.



Die Verbindung **8** diente des Weiteren für die Synthese von Siderophor-Analoga mit größerem Abstand der Catecholeinheiten vom Saccharidgrundgerüst. Die Umsetzung erfolgte hierbei mit 2,3-Di-(acetoxy)phenoxyacetylchlorid **X**, 8-Methoxycarboxyloxy-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-1,3-benzoxazin-3-yl-acetylchlorid **XVI** und 8-Methoxycarboxyloxy-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-1,3-benzoxazin-3-yl-propionylchlorid **XVII**.

Die so erhaltenen, in Position 6 tritylgeschützten Verbindungen **9 d**, **9 e** und **9 g** wurden wiederum mit methanolischer Bortrifluorid-Diethyletherat-Lösung in die entsprechenden entschützten Verbindungen **10 d** und **10 e** überführt. Das Benzoxazin **9 g** wurde in einem Reaktionsschritt erst mit  $\text{BF}_3$ -Etherat und dann mit Natronlauge zum Methyl-2,3,4-tris-*O*-{*N*-[*N*-(2,3-dihydroxybenzoyl)-*b*-alanyl]-3-aminopropyl}-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **10 g** hydrolysiert.

Die Hydrolyse der Verbindungen **9 e** und **10 e** wurde ebenfalls mit wässriger NaOH-Lösung durchgeführt und ergab Methyl-2,3,4-tris-*O*-{*N*-[*N*-(2,3-dihydroxybenzoyl)-glycyl]-3-aminopropyl}-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **9 f**, sowie die entsprechende Verbindung **10 f** (**Abb. 16**).

Die Hydrierung der Nitrilgruppen von der Verbindung **7** zu den primären Aminen erwies sich als einer der entscheidendsten Schritte dieser Siderophorsynthesen. In Anlehnung an verschiedene Hydrierverfahren von Nitrilen nach Ryländer [1985] waren bereits zuvor auch andere Hydrierungen der Nitrilgruppen erfolglos versucht worden. Unter anderem wurden Versuche mit Palladium/Kohlenstoff-Katalysatoren in ethanolischer bzw. methanolischer Lösung unter Zugabe von Ammoniak oder Salzsäure durchgeführt. Trotz Erwärmung und dem Arbeiten unter Druck konnte keine vollständige Hydrierung der Nitrilgruppen ohne Zerstörung der Verbindung oder andere Nebenreaktionen erreicht werden. Eine Zugabe von  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  zur methanolischen Nitrillösung, anschließendes Schütteln und eine darauf folgende Hydrierung mit Pd/C führte zu keinem Erfolg. Rosenthal und Baker beschrieben ebenfalls mehrere Hydrierungsmethoden, zum einen eine Hydrierung von Nitrilen mit  $\text{LiAlH}_4$  in Ether [1969], zum anderen eine Hydrierung über einem Rhodium/Aluminiumhydroxid-Katalysator in Ethanol [1973]. Die beiden Verfahren zeigten keine positive Reaktion bei der Hydrierung der drei Zuckernitrile.

Ein weiterer Versuchsansatz zur Herstellung von Aminospacern bestand in der Allylierung der Zuckermoleküle. Nach Kabalka *et al.* [1981] setzen sich Allylverbindungen mit Borhydrid in Gegenwart von Ammoniumhydroxid mit Natriumhypochlorid bei 0 °C zu primären Aminen um. Die dreifache Allylierung des Zuckers mit Natriumhydrid in DMF nach dem

Zutropfen von Allylbromid bei 0 °C konnte in guter Ausbeute erreicht werden **11** [Leydet *et al.*, 1997]. Im nächsten Schritt, der Bildung der Amine, konnte jedoch kein reines Methyl-2,3,4-tri-*O*-(2-aminoethyl)-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **12** erhalten werden. (Abb. 18).

Einfache ungeschützte Monosaccharidallylverbindungen reagieren nach Lee und Lee [1974] außerdem mit 2-Aminoethanthiol nach dem Mechanismus einer Michael-Addition. So wurde versucht, die Trisallylverbindung **11** mit einer Lösung von 2-Aminoethanthiolhydrochlorid in Wasser (bidest.) zu Methyl-2,3,4-tri-*O*-[(2-ethylsulfanyl)-2-ethylamine]-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **13** umzusetzen (Abb. 17). Die Additionsreaktion fand jedoch nicht statt, so dass diese Spacerstrecke nach mehrmaligen Versuchsdurchführungen nicht weiter verfolgt wurde.

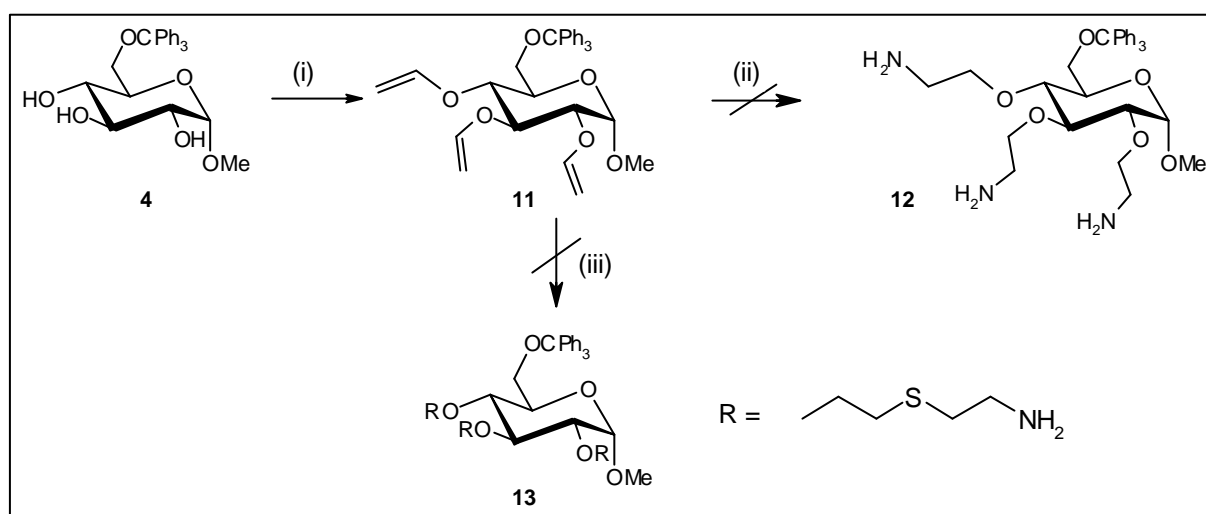


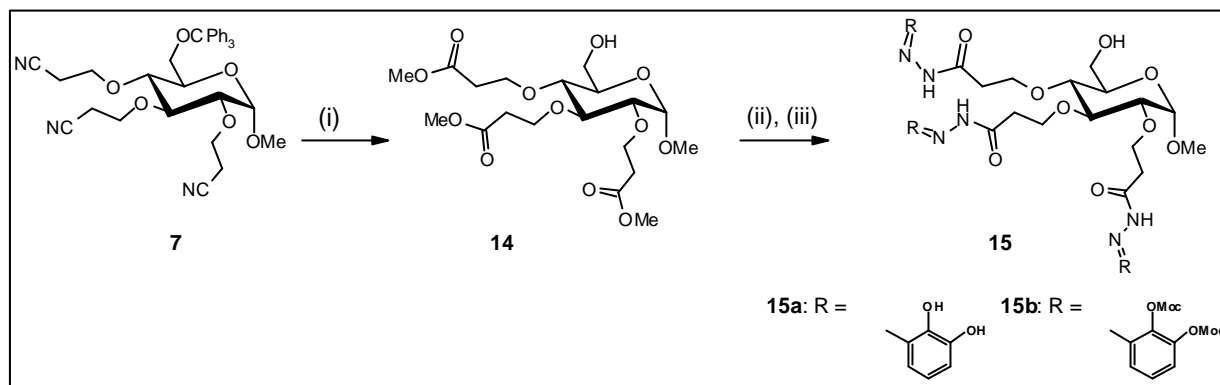
Abb. 17: Synthese verschiedener Aminspacer über Trisallylverbindungen

(i) NaH, DMF, Allylbromid; (ii) NH<sub>4</sub>OH, NaOCl; (iii) 2-Aminoethanthiolhydrochlorid, H<sub>2</sub>O

### 3.1.3.2 Synthese von Dihydroxybenzylidenhydrazino-Derivaten aus Methyl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid

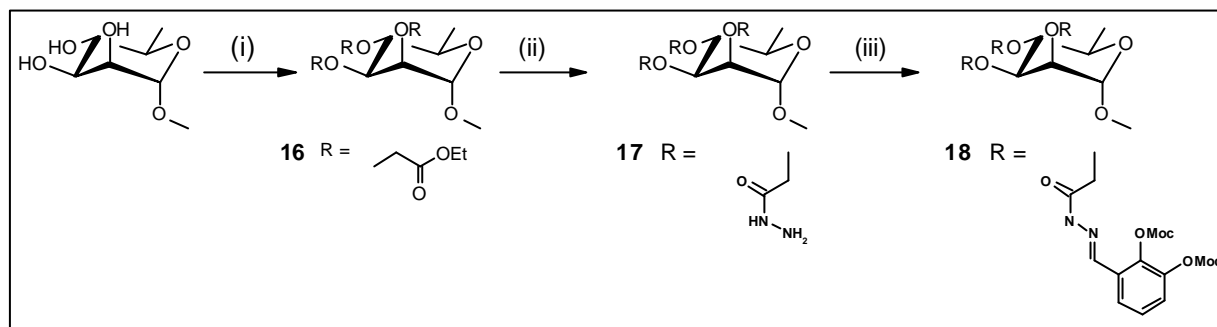
Die Variation der Spacerstruktur zwischen Zucker und Chelatgruppe ermöglichte eine Untersuchung der Struktur-Wirkungsbeziehungen. Die Aminopropylgruppe wurde dabei durch eine Hydrazinocarbonylethoxygruppe ersetzt. Als Ausgangsverbindung wurde das schon in den ersten Synthesen verwendete Methyl-2,3,4-tri-*O*-(2-cyanoethyl)-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **7** eingesetzt, welches in einem ersten Schritt mit einer HCl-gesättigten Methanollösung [Mori, 1974] zu Methyl-2,3,4-tri-*O*-[2-(carboxymethyl)ethyl]- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **14** umgesetzt wurde [Bazin *et al.*, 1995]. Anschließend wurde eine wässrige Lösung von **14** mit Hydrazin versetzt und erwärmt [Organikum, 1993]. Das resultierende Methyl-2,3,4-tri-*O*-(2-hydrazinocarbonyl)ethyl)- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid reagierte mit

2,3-Dihydroxybenzaldehyd und 2,3-Di-(methoxycarbonyloxy)benzaldehyd in Gegenwart von Eisessig zu den Verbindungen 15a und 15b (Abb. 18).



**Abb. 18:** Synthese von Methyl-2,3,4-Tris-[2-(2,3-dihydroxybenzylidenhydrazinocarbonyl)ethyl]-*a*-*D*-glucopyranosid **15 a** und Methyl-2,3,4-tris-[2-(2,3-dimethoxycarbonyloxybenzylidenhydrazinocarbonyl)ethyl]-*a*-*D*-glucopyranosid **15 b**, Moc = COOCH<sub>3</sub>; (i) HCl/Methanol; (ii) Hydrazinhydrat, Δ; (iii) R-CHO, Eisessig, Essigsäureethylester

Als weitere Ausgangsverbindungen wurden die Zucker Methyl- $\alpha$ -*D*-Ribose, Methyl- $\alpha$ -*D*-Xylose, Methyl- $\alpha$ -*D*-Arabinose und Methyl-*a*-*L*-Rhamnose verwendet. Diese Monosaccharide wurden in einem 1. Schritt mit Diazoessigestern und BF<sub>3</sub>-etherat als Lewis-Säure in Chloroform zu Tricarboxymethylessigestern z. B. Methyl-2,3,4-tris-*O*-(2-ethoxycarbonylmethyl)-*a*-*L*-rhamnopyranosid **16** umgesetzt [Borggreffe, 1972]. Anschließend wurden die verschiedenen Zuckerderivate in einer wässrigen Lösung mit Hydrazin versetzt und erwärmt [Organikum, 1993]. Bei diesem Schritt erwies sich jedoch nur das resultierende Methyl-2,3,4-tris-*O*-(hydrazinocarbonylmethyl)-*a*-*L*-rhamnopyranosid **17** als stabiles Produkt, welches mit 2,3-Di-(methoxycarbonyloxy)benzaldehyd in Eisessig zu der Verbindung **18** (Abb. 19) reagierte. Dieses Produkt konnte jedoch nur in sehr geringen Mengen isoliert werden, die zwar ausreichend für die strukturelle Charakterisierung waren, jedoch zu gering, um eine biologische Testung daran durchzuführen.



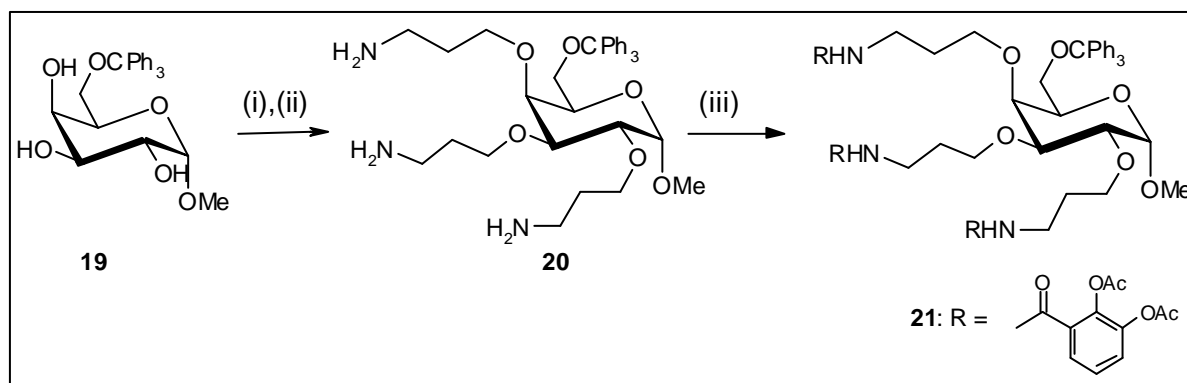
**Abb. 19:** Synthese von Methyl-2,3,4-*O*-Tris-[2-(2,3-di-(methoxycarboxyloxy)benzylidenhydrazinocarbonyl)methyl]- $\alpha$ -*L*-rhamnopyranosid **18** (i)  $\text{BF}_3$ -Etherat, Diazoessigester; (ii) Hydrazinhydrat,  $\Delta$ ; (iii) 2,3-Dihydroxybenzaldehyd, Eisessig

Ein Grund für das Scheitern der analogen Synthesen mit den Pentosen könnte darin bestehen, dass sie während der Reaktion mit Hydrazin unter erhöhten Temperaturen Abbaureaktionen unterliegen und daher keine stabilen Produkte bilden.

Die Bildung der Tris-Ethoxycarbonylmethyl-Derivate dieser Zucker verlief zuvor ebenfalls in wesentlich schlechteren Ausbeuten (<10%) und nicht isomerenrein.

### 3.1.3.3 Triscatecholate mit Galactopyranosidgrundgerüst

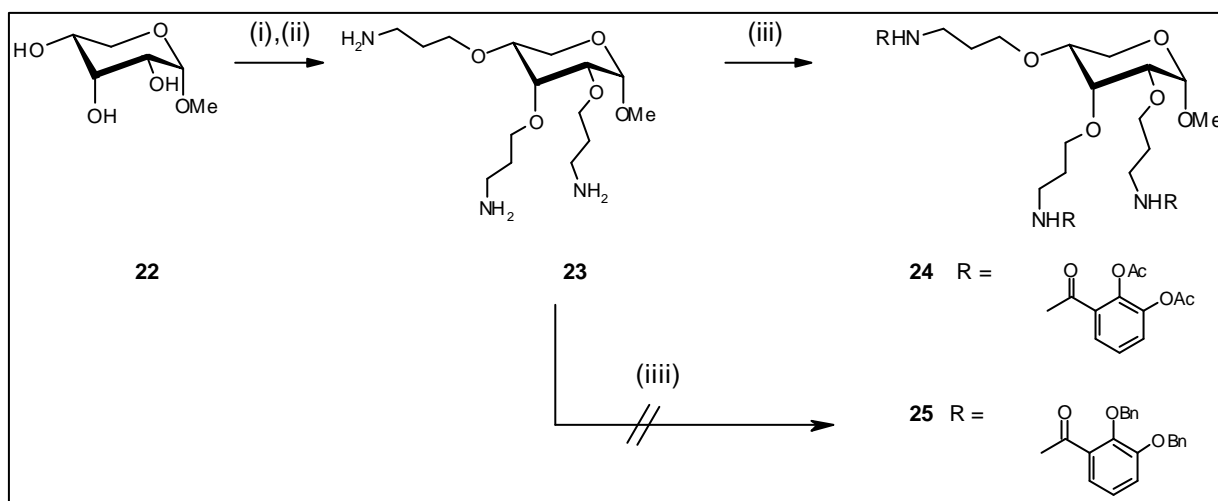
Zum Vergleich der Siderophoraktivitäten von Triscatecholaten mit unterschiedlichem Monosaccharidgrundgerüst wurde in einem Fall der Zucker durch Methyl- $\alpha$ -*D*-galactopyranosid substituiert. Die Synthese verlief analog zu der Synthese des Glucosederivats **10 b** über die Cyanethylierung von Methyl-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-galactopyranosid **19**, die anschließende Hydrierung zu Methyl-2,3,4-tris-*O*-(3-aminopropyl)-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-galactopyranosid **20** und die Reaktion mit 2,3-Di-(acetoxy)benzoylchlorid zu Methyl-2,3,4-tris-*O*-{*N*-[2,3-di-(acetoxy)benzoyl]-3-aminopropyl}-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-galactopyranosid **21** (Abb. 20).



**Abb. 20:** Synthese und Struktur des Triscatecholats von Methyl- $\alpha$ -*D*-galactopyranosid **21** (i) Acrylnitril, 1 M KOH; (ii)  $\text{NaBH}_4$ ,  $\text{CoCl}_2$ , Methanol; (iii) R-Cl, TEA, DMAP, THF (abs.)

### 3.1.3.4 Triscatecholate mit Ribopyranosidgrundgerüst

Zum Vergleich der Siderophoraktivitäten von Triscatecholen mit Monosaccharidgrundgerüst wurde in einem weiteren Fall der Zucker durch Methyl- $\alpha$ -*D*-ribopyranosid substituiert. Die Synthese verlief, wie oben für das Glucosederivat **10 b** beschrieben, über die Cyanethylierung von Methyl-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-ribopyranosid **22**, die anschließende Hydrierung zu Methyl-2,3,4-tris-*O*-(3-aminopropyl)- $\alpha$ -*D*-ribopyranosid **23** und die Reaktion mit 2,3-Di-(acetoxy)-benzoylchlorid zu Methyl-2,3,4-tris-*O*-{*N*-[2,3-di-(acetoxy)benzoyl]-3-aminopropyl}ribo-pyranosid **24** (Abb. 21). Das Produkt **24** wurde zwar in der ESI-Massenspektrometrie als  $[M-H]^- = 994,9$  Da und  $[M+Na]^+ = 1019,1$  Da gefunden. Jedoch lag das gewünschte Produkt in sehr geringer Konzentration in einem Produktgemisch von Verbindungen mit einem unterschiedlichen Substitutionsgrad und Reaktionsprodukten, bei denen einzelne Spacergruppen abgespalten waren, vor. Weiterhin konnten ebenfalls Ringöffnungsprodukte identifiziert werden. Dieses Produktgemisch ließ sich durch seine chemische Ähnlichkeit mit Hilfe verschiedener Gradientenprogramme der HPLC nicht trennen. Mehrfache Versuchswiederholungen mit unterschiedlichen Reaktionstemperaturen und Eduktkonzentrationen führten ebenfalls zu ähnlichen Produktgemischen, die nicht weiter aufgetrennt werden konnten. Ein zweiter Amidbildungsversuch mit dem Trisamin **23**, diesmal mit 2,3-Dibenzylbenzoesäure über die Bildung eines Aktivesters mit (*O*-Benzotriazol-1-yl)-*N,N,N',N'*-tetramethyluronium-hexafluorosphat (HBTU) und Triethylamin in Acetonitril führte nicht zur gewünschten Verbindung **25**.



**Abb. 21: Synthese und Struktur des Triscatecholats von Methyl- $\alpha$ -*D*-ribopyranosid **24****  
 (i) Acrylnitril, 1 M KOH; (ii)  $\text{CO}_2\text{B}$ ,  $\text{NaBH}_4$ , Methanol; (iii) R-Cl, TEA, DMAP, THF (abs.),  $-5^\circ\text{C}$ , (iiii) RCOOH, HBTU, TEA, ACN

### 3.1.4. Synthese von Trishydroxamat-Siderophor-Analoga

Viele bakterielle Siderophore, wie z. B. das Ferrichrom oder das Ferricrocin enthalten an Aminosäuren gebundene Hydroxamatgruppen. Für die Synthese analoger Verbindungen mit Monosaccharidgerüst wurden Methyl-*a-D*-glucopyranosid, Methyl-*a-D*-galactopyranosid, Methyl-*a-D*-ribopyranosid **22**, Methyl-*a-D*-xylopyranosid **26** und 1,3,5-Tri-*O*-benzyl-*myo*-inosit **27** als Edukte eingesetzt. Die Methyl-*a-D*-hexopyranoside wurden zuerst mit Triphenylmethylchlorid in einer DMF-Lösung in die entsprechenden 6-*O*-Triphenylmethylverbindungen **4** und **19** nach Chaudhary *et al.* [1979] überführt.

Die Methyl-*a-D*-pentopyranoside **22** und **26** wurden über eine Fisher-Glycosidierung mit Methanol unter Verwendung von Ionenaustauscherharzen dargestellt [Bishop *et al.*, 1963].

*Myo*-Inosit **27** wurde mit Triethylorthoformiat in DMF zu *myo*-Inosit-monoorthoformiat **28** umgesetzt, die ungeschützten OH-Gruppen in Position 1, 3 und 5 wurden mit Benzylbromid in DMF in Gegenwart von Natriumhydrid benzyliert **29**. Anschließend wurde die Orthoformiatschutzgruppe mit 10 M HCl in Methanol wieder abgespalten und es wurde das 2,4,6-Tribenzyl-*myo*-inosit **30** erhalten (Abb. 22) [Billington *et al.*, 1989].

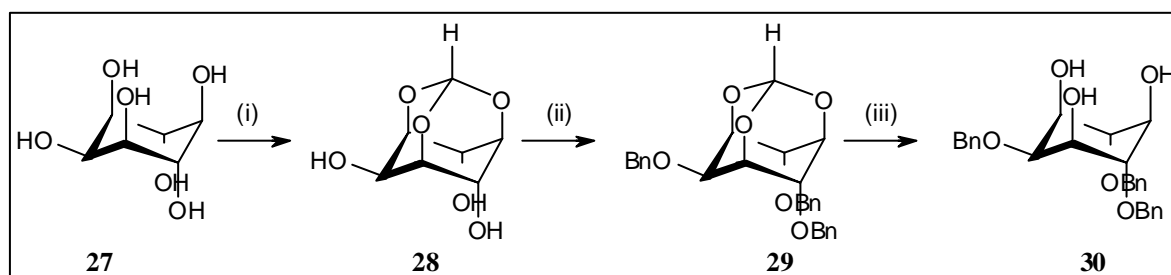
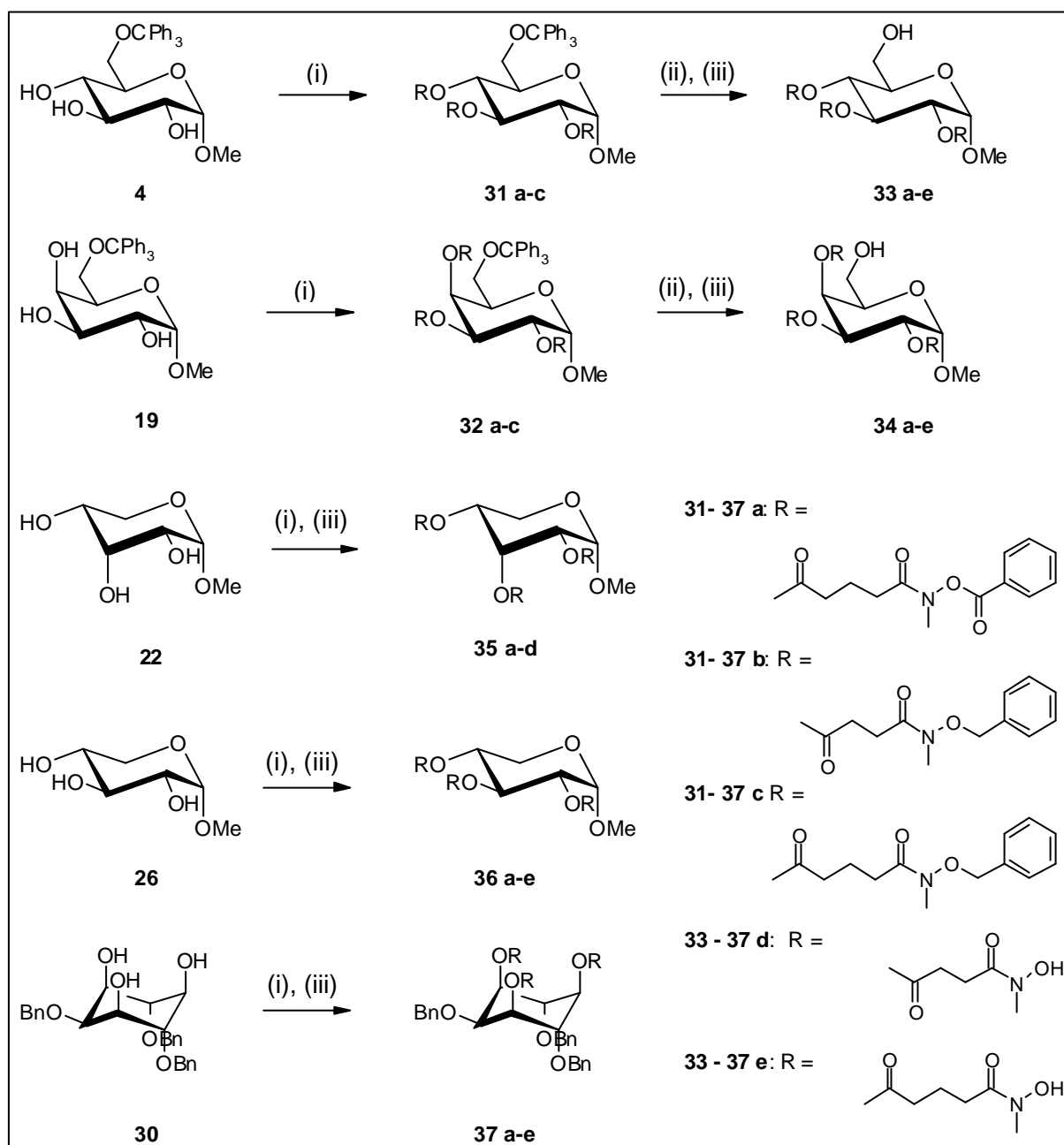


Abb. 22: Darstellung von 2,4,6-Tribenzyl-*myo*-inosit **30** aus *myo*-Inosit **27**: (i) HC(OEt)<sub>3</sub>, DMF, p-TsOH x H<sub>2</sub>O, (ii) BnBr/NaH, DMF (abs.), (iii) HCl/MeOH

Die Ausgangsprodukte **4**, **19**, **22**, **26** und **30** wurden mit Hilfe von Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) und DMAP mit den Hydroxamsäuren **XX**, **XXVI** und **XXXVII** verestert. Die Abspaltung der Tritylschutzgruppe von den Verbindungen **31 a-c** und **32 a-c** erfolgte, wie oben bei den Catecholatsynthesen erwähnt, mit Bortrifluorid-Diethyletherat in Dichlormethan [Dax *et al.*, 1978] und ergab die benzoyl- und benzylgeschützten Trishydroxamate **33 a-c** und **34 a-c**. Aus der Ribopyranosid- **22** und der Xylopyranosidverbindung **26** sowie der *myo*-Inositverbindung **30** wurde auf direktem Weg die benzoyl- und benzylgeschützten Trishydroxamate **35 a-c**, **36 a-c**, **37 a-c** gewonnen. Als letzter Syntheseschritt zu den Trishydroxamatsiderophoren **33 d, e**, **34 d, e**, **35 d**, **36 d, e**, **37 d, e**, **38 d, e** erfolgte die Abspaltung der Benzylgruppen durch Hydrierung mit Wasserstoff über einem Palladium/Kohlenstoff-Katalysator in Methanol (Abb. 23).



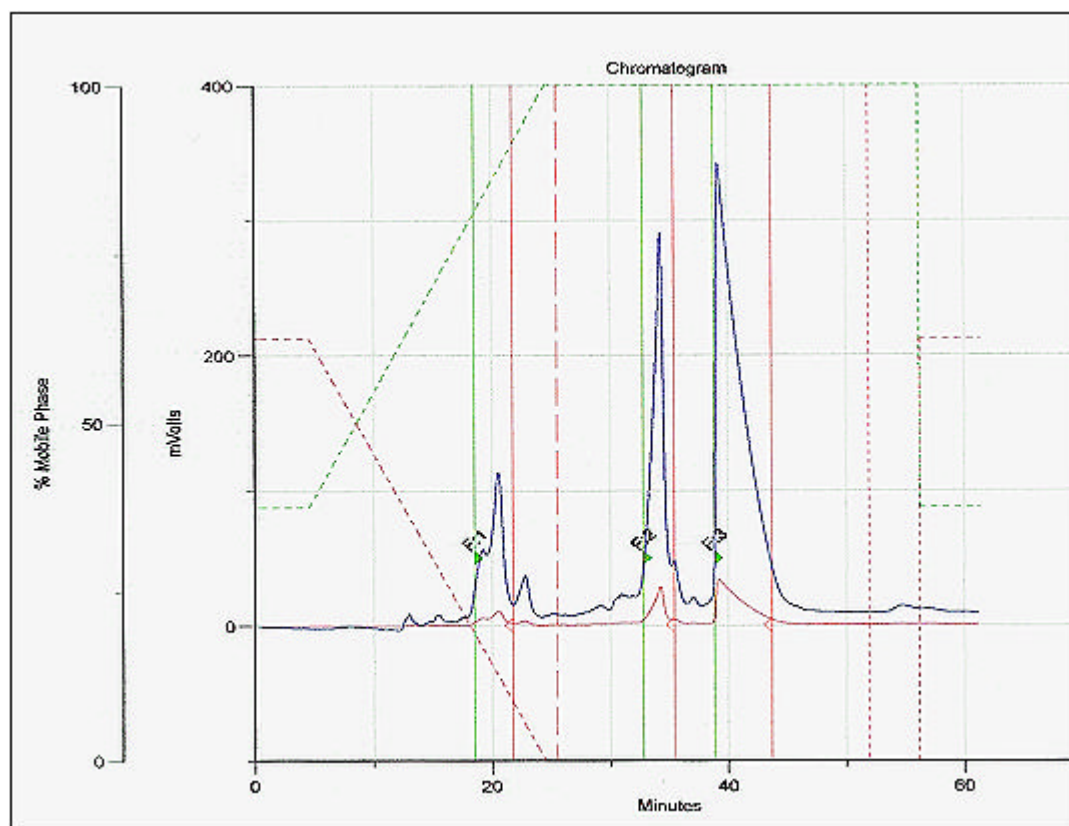


**Abb. 23: Trishydroxamatsynthesen ausgehend von verschiedenen Monosacchariden** (i) XX, XXXVI bzw. XXXVII mit DCC, DMAP,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; (ii)  $\text{BF}_3$ -Diethyletherat/Methanol,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; (iii)  $\text{H}_2$ , Pd/C (10%), Methanol

Die neu synthetisierten Trishydroxamatverbindungen sind genauer betrachtet Revershydroxamate. Hier sind gegenüber den natürlichen Hydroxamaten die NOR- und CO-Gruppe vertauscht, wobei die Chelateigenschaften gegenüber Metallionen erhalten bleiben. Die Revershydroxamate sind jedoch synthetisch besser zugänglich.

Die Revershydroxamatverbindungen lassen sich im Gegensatz zu den Catecholatverbindungen auch in größeren Ausbeuten gewinnen. Die chromatographische Trennung dieser Verbindungen ist wesentlich leichter und sie lassen erkennen, dass die Synthesen wesentlich selektiver ablaufen. Als Beispiel ist ein Chromatogramm der HPLC-

Trennung von Verbindung **33 c** (Abb. 24) abgebildet. Es sind drei Hauptfraktionen zu erkennen, welche einfach-, zweifach- und dreifach-substituierten Produkten des Methyl- $\alpha$ -D-glycopyranosids entsprechen. Die Fraktion F3 konnte eindeutig über die Massenspektrometrie und die NMR-Spektroskopie der angegebenen Struktur zugeordnet werden. Die anschließende Hydrierung über einem Palladium/Kohlenstoffkatalysator bewirkte keine sterische Änderungen des Zuckerhydroxamats und das Produkt konnte annähernd vollständig umgesetzt werden.



**Abb. 24:** Chromatogramm einer HPLC-Trennung der Verbindung **33 c**; HPLC-Gradient: 40% ACN, 5 min; +3%/min, 100% ACN 25 min, F = Fraktion 1-3

Die **Abbildungen 25** und **26** zeigen zweidimensionale NMR-Spektren der Verbindung **33 c** in der Form eines HMBQC-NMR-Spektrums, bei welchem die Fernkopplungen zwischen C- und H-Atomen ermittelt werden. Im Vergleich zu einem normalen  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$ -Shift-korrelierten 2D-NMR-Spektrum erkennt man in diesem Spektrum Korrelationspeaks, die zu  $^{13}\text{C}$ -Kernen und Protonen an Nachbaratomen gehören ( $^2J_{\text{CH}}$ ). Durch diese Spektren werden insbesondere die Verknüpfungen der Alkohole mit den Hydroxamatresten eindeutig bestimmt.

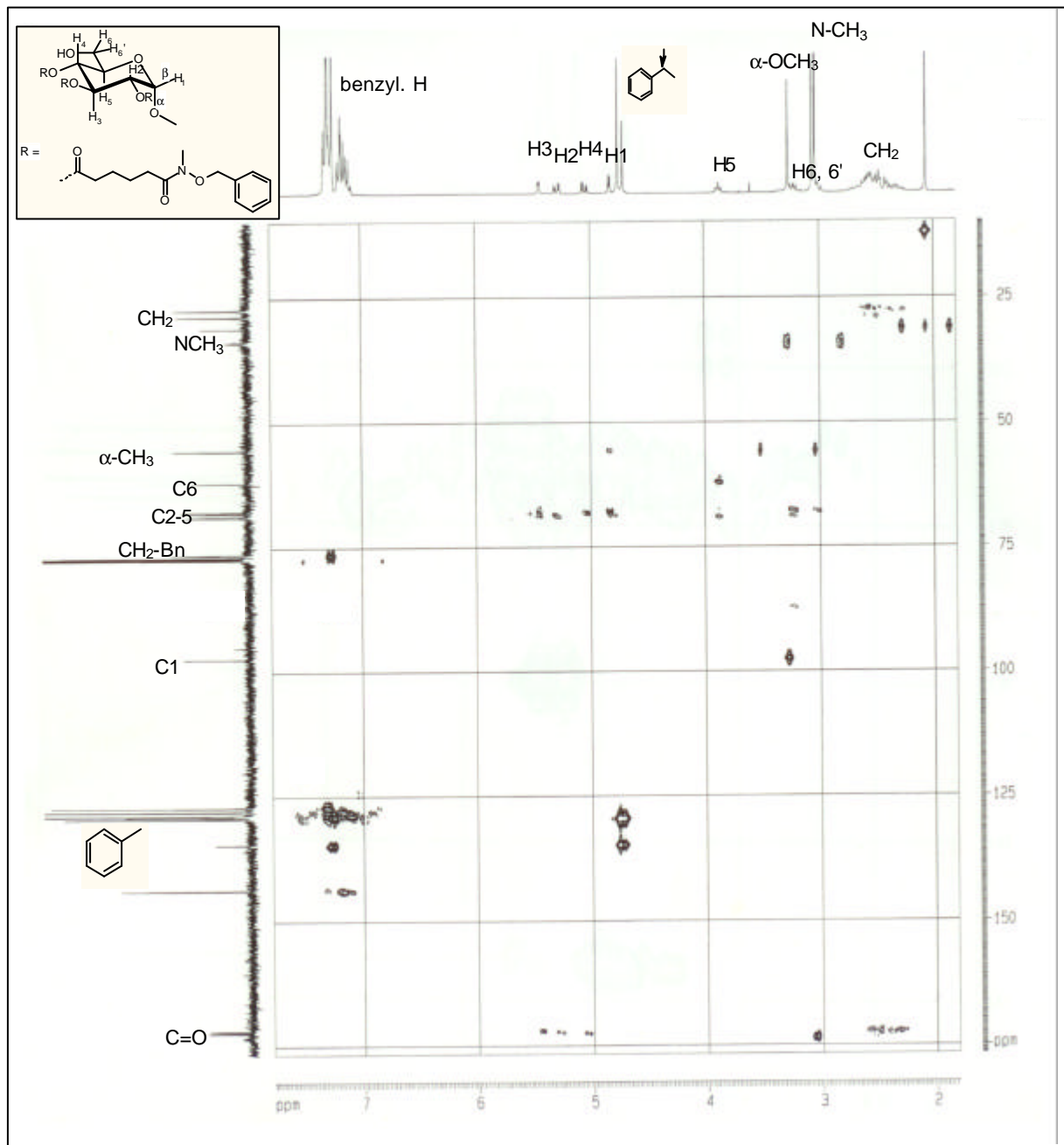
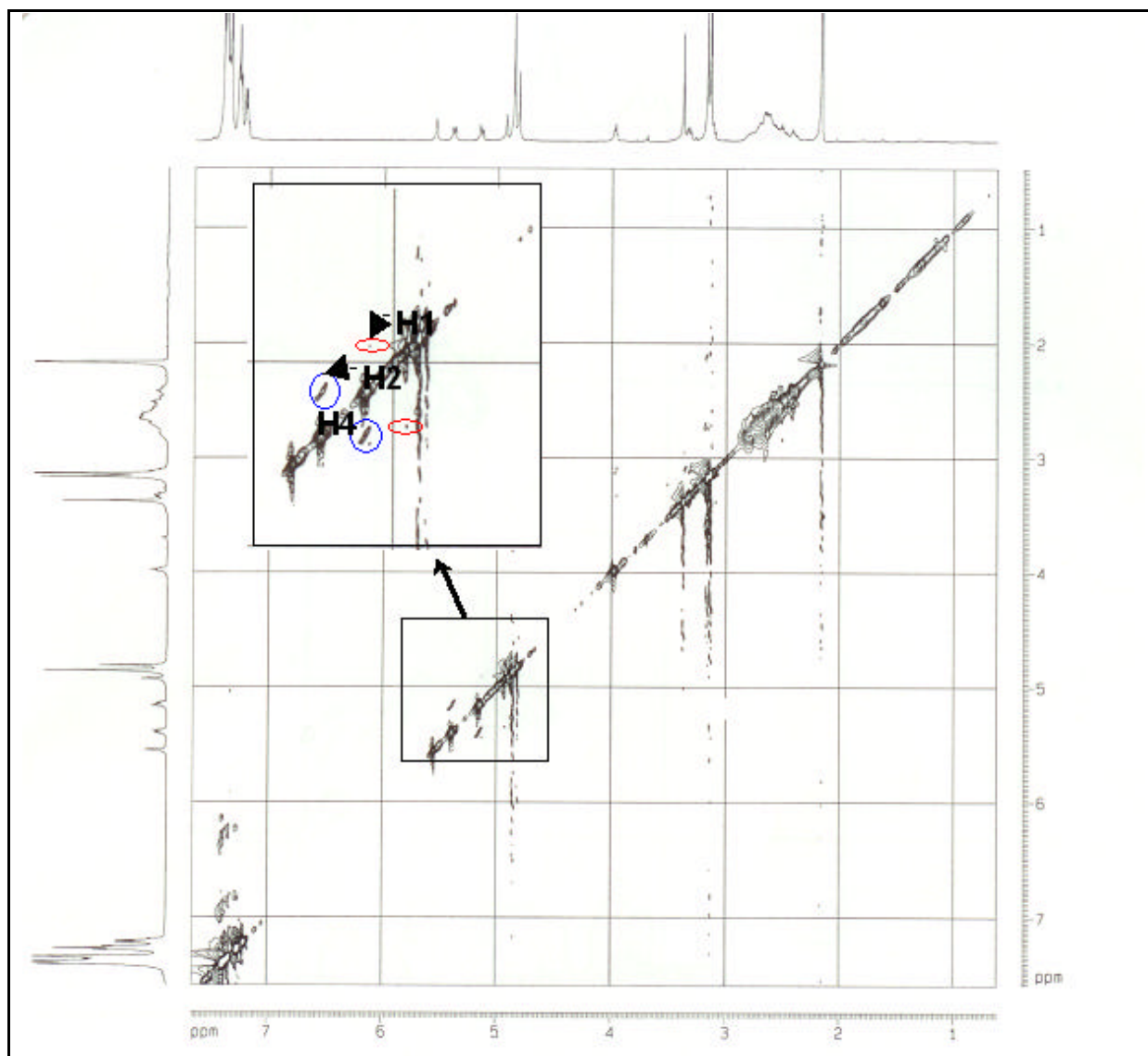


Abb. 25: Zweidimensionales HMBQC-<sup>13</sup>C,<sup>1</sup>H-NMR-Spektrum der Verbindung 33 c in CDCl<sub>3</sub>

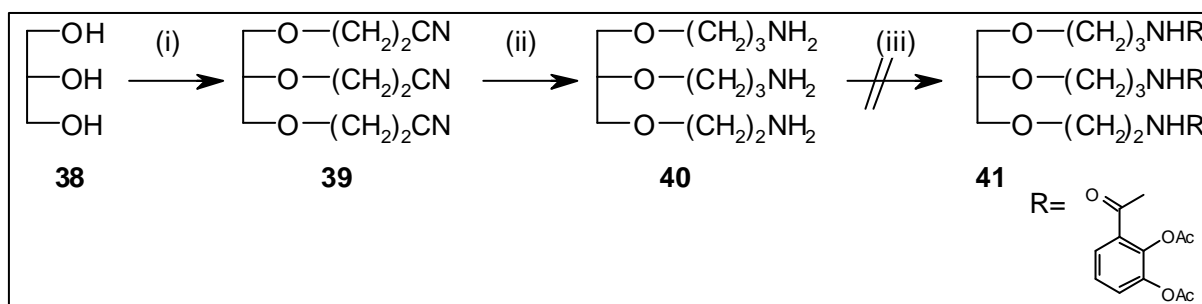


**Abb. 26:** 500 MHz-NOESY- $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum der Verbindung 33 c in  $\text{CD}_3\text{OD}$ .  
Ausschnitt: Bestimmung der Stereochemie der Wasserstoffe im Glucopyranosid.

Im NOESY-NMR-Spektrum werden die homonuklearen Kopplungen zwischen den verschiedenen Protonen im Molekül dargestellt. Durch diese Methode ist eine Konformations- bzw. Konfigurationsbestimmung des Moleküls möglich. So ist aus dem dargestellten Spektrum zu entnehmen, dass das H1-Atom schwach mit dem H2-Atom und das H2-Atom mit dem H4-Atom koppelt. Mit diesen Kopplungen und den  $^1\text{H}$ -Verschiebungen kann die Stereochemie des Moleküls festgelegt werden. Es handelt sich eindeutig um eine Methyl- $\alpha$ -D-Glucopyranosidverbindung.

### 3.1.5. Versuche zur Synthese von Glycerintriscatecholaten als Modellverbindungen

Geplant waren weiterhin Synthesen mit Glycerin als einfacher linearer Modellverbindung eines Trisalkohols. Die drei Alkoholgruppen sollten zunächst als einfaches System mit Catecholen über Spacer verknüpft werden. Die Überlegung war, dass aus den Erkenntnissen, die aus diesen Synthesen gewonnen werden sollten, eine systematische Übertragung auf Zucker erfolgen sollte. Die angestrebten Verbindungen sollten über eine Cyanethylierung, eine anschließende Hydrierung zu einem Trisamin und die Verknüpfung mit Catecholverbindungen zu einem Siderophor-Analogon erfolgen. Die ersten zwei Stufen konnten erfolgreich durchgeführt werden, obwohl bei der Cyanethylierung mit KOH und Acrylnitril sehr viele Nebenprodukte, unter anderem Dioxopropionitril entstanden, die nur mit einer Kugelrohrdestillation (15 mm Hg) bis 240 °C entfernt werden konnten (**Abb. 27**). Die Hauptfraktion wurde bei 260 - 262 °C überführt. Es wurde beobachtet, dass der Anteil der Nebenprodukte umso größer wurde, je stärker sich das Reaktionsprodukt gelb anfärbte. Der Rückstand musste anschließend über eine Kieselgelsäule chromatographisch getrennt werden. Die Hydrierung mit  $\text{Co}_2\text{B}$  und  $\text{NaBH}_4$  gelang nur in sehr geringen Ausbeuten (5%). Mit anderen Hydriermethoden wurde keine Hydrierung aller Cyanidgruppen erzielt. Die Verknüpfung des Trisamins blieb jedoch erfolglos, da das Edukt unter verschiedenen Bedingungen in einer undefinierten Form als eine Art Harz ausfiel und nicht mit den verschiedenen Catecholsäurechloriden, bzw. Catecholsäureaktivestern reagierte. Somit konnte das Glycerin nicht wie geplant als Modellverbindung eingesetzt werden. Durch die höhere Stabilität und ihre starre sterische Struktur waren die Zucker für die angestrebte Triscatecholatsynthese besser geeignet, zumal die Neigung zur Polymerisation im Gegensatz zum Glycerin sehr gering ausgebildet ist.



**Abb. 27:** Versuche zur Synthese und Struktur der Triscatecholatverbindungen von Glycerin (i) Acrylnitril, 40% KOH, 5 °C (ii)  $\text{Co}_2\text{B}$ ,  $\text{NaBH}_4$ , Methanol (iii)  $\text{R}-\text{COCl}$ , TEA, DMAP, bzw.  $\text{R}-\text{COOH}$ , HBTU, TEA, Acetonitril

## 3.2 Physikochemische Untersuchungen der Monosaccharidsiderophore

Die physikochemische Charakterisierung der neu synthetisierten Siderophoranaloga mit Kohlenhydratgrundgerüst erfolgte in der Arbeitsgruppe von Prof. Crumbliss, Universität Durham, USA.

Eisen liegt unter wässrigen aeroben Bedingungen und neutralem pH zumeist als unlösliches Eisen(III)hydroxid vor [Crichton *et al.*, 2001]. Bei einem pH-Wert von 7,4 und in Abwesenheit chelatisierender Liganden liegt der Gehalt an löslichem Eisen  $[\text{Fe}^{3+}_{(\text{aq})} + \text{Fe}(\text{OH})^{2+}_{(\text{aq})} + \text{Fe}(\text{OH})_2^{+}_{(\text{aq})}]$  bei  $10^{-10}$  M [Boukhalfa *et al.*, 2002]. Diese Konzentration ist viermal niedriger als die für das optimale Wachstum von Mikroorganismen essentiell benötigte Eisenkonzentration [Braun *et al.*, 1999]. Mikrobielle Siderophore haben eine hohe spezifische Affinität zu  $\text{Fe}^{3+}$ . Ihre Komplexbildungskonstanten liegen bei  $\log\beta > 30$  [Albrecht-Gary *et al.*, 1998] und sie chelatisieren selektiv dieses Metallion. Im Folgenden wurden ausgewählte Triscatecholate und Trishydroxamate der neu synthetisierten Monosaccharidsiderophore auf ihre Eisenkomplexierungseigenschaften untersucht und mit denen natürlicher und synthetischer Siderophore verglichen. Die Charakterisierung ihrer Eisenchelatisierung und ihrer Stabilität in wässrigen Medien ist bei gleichzeitiger Betrachtung ihrer biologischen Wirkung von großem Interesse. Aus den ermittelten Werten können Rückschlüsse auf die Struktur-Wirkungsbeziehungen dieser neuen Siderophore gezogen werden. Solche Untersuchungen waren jedoch im Rahmen dieser Arbeit nicht möglich, da zu wenig Substanzen physikochemisch untersucht werden konnten. Die exemplarisch untersuchten Substanzen sollen jedoch Hinweise über Vergleiche mit anderen natürlichen und synthetischen Siderophoren geben. Vorteile der Kohlenhydratsiderophore gegenüber Enterobactin- bzw. Ferrioxaminanaloga könnten in einer signifikant verbesserten Wasserlöslichkeit, einer stärkeren Hydrolyseresistenz und einer aufgrund des chiralen Grundgerüsts besseren Erkennung durch das Siderophoraufnahmesystem liegen. Hieraus würde eine höhere Verfügbarkeit von Eisen für die Zellen folgen.

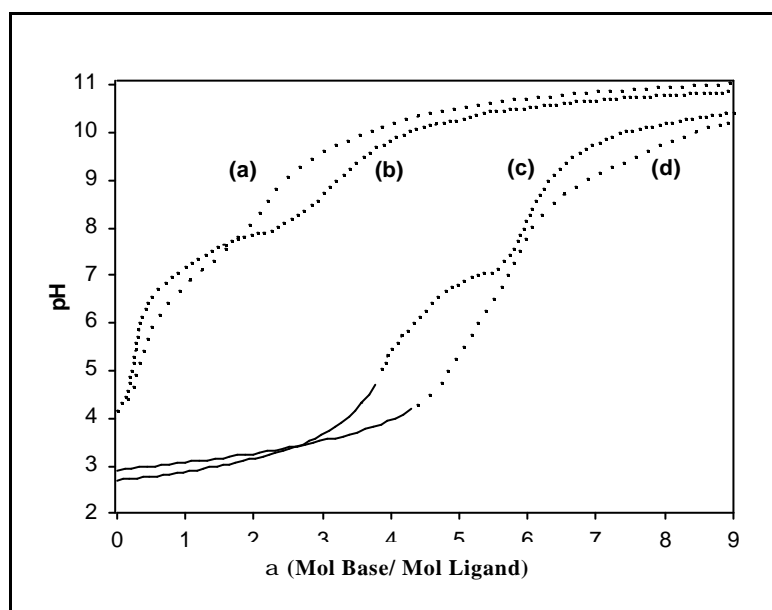
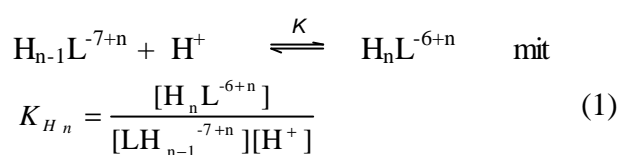
### 3.2.1 Triscatecholate

#### 3.2.1.1 Bestimmung der Protonierungskonstanten der Triscatecholatliganden

Für die Bestimmung der  $\text{Fe}^{3+}$ -Komplexbildungskonstanten war die vorherige Festlegung der Protonierungskonstanten von großer Bedeutung. Die Triscatecholate Methyl-2,3,4-tris-*O*-{*N*-[2,3-di(hydroxy)benzoyl-glycyl]-aminopropyl}- $\alpha$ -D-glucopyranosid 10 f, im weiteren Verlauf als  $\text{H}_6\text{L}_A$  beschrieben, und Methyl-2,3,4-tris-*O*-{*N*-[2,3-di(hydroxy)-benzoyl]-

aminopropyl}- $\alpha$ -D-glucopyranosid 10 b ( $\equiv$ H<sub>6</sub>L<sub>B</sub>) wurden als 6-Protonensysteme angesehen. Für jedes Triscatecholat sollten also 6 Protonierungskonstanten bestimmt werden. Diese Protonierungskonstanten sollten durch potentiometrische und spektrophotometrische Titrations ermitteln werden.

Die potentiometrischen Gleichgewichtskurven für die Verbindungen H<sub>6</sub>L<sub>A</sub> und H<sub>6</sub>L<sub>B</sub> und ihrer Fe(III)-Komplexe Fe(III)-H<sub>6</sub>L<sub>A</sub> und Fe(III)-H<sub>6</sub>L<sub>B</sub> werden in **Abb. 28** dargestellt. In der vorliegenden Analyse gibt **a** die Moläquivalente der Base, die pro Ligand addiert wurden, an. Beide Liganden zeigten sehr ähnliche Titrationskurven. Die Ligandprotonierungskonstanten  $K_{Hn}$  sind durch **Gl. 1** definiert und in **Tab. 1** aufgelistet.



**Abb. 28:** Potentiometrische Titrationskurven (a)  $5,0 \times 10^{-4}$  M H<sub>6</sub>L<sub>A</sub>; (b)  $4,9 \times 10^{-4}$  M H<sub>6</sub>L<sub>B</sub>; (c) H<sub>6</sub>L<sub>B</sub> + Fe<sup>3+</sup>, 1:1,  $4,9 \times 10^{-4}$  M; (d) H<sub>6</sub>L<sub>A</sub> + Fe<sup>3+</sup>, 1:1,  $5,0 \times 10^{-4}$  M; T= 298 K und  $\mu = 0,10$  M NaClO<sub>4</sub><sup>1</sup>; durchgehende Linien = auftretender Niederschlag; Punktlinien = homogene Lösung

<sup>1</sup>  $\mu$  = Leitsalzkonzentration in destilliertem Wasser

**Tab. 1: Ligandprotonierungskonstanten für  $H_6L_A$  und  $H_6L_B$** <sup>a</sup>

$\log KH_n L^b$	$L_A$	$L_B$
n = 1	12,9 <sup>c</sup>	13,1 <sup>c</sup>
n = 2	12,1 <sup>c</sup>	12,3 <sup>c</sup>
n = 3	11,3 <sup>c</sup>	11,56 ± 0,22 <sup>d</sup>
n = 4	9,40 ± 0,16 <sup>d</sup>	10,47 ± 0,21 <sup>d</sup>
n = 5	7,80 ± 2,24 <sup>d</sup>	8,11 ± 0,27 <sup>d</sup>
	7,82 ± 0,30 <sup>e</sup>	
n = 6	6,39 ± 0,31 <sup>d</sup>	7,35 ± 0,25 <sup>d</sup>

<sup>a</sup> T = 298 K und  $\mu = 0,10$  M NaClO<sub>4</sub><sup>b</sup> definiert durch Gl. (1)<sup>c</sup> Abschätzung auf der Basis von *N,N*-Dimethyl-2,3-dihydroxybenzamid [Raymond *et al.*, 1984; Rodgers *et al.*, 1987]<sup>d</sup> bestimmt durch potentiometrische Titration<sup>e</sup> bestimmt durch spektrometrische Titration

Die drei niedrigeren dieser sechs Protonierungskonstanten ( $K_{Hn}$ ; n = 4-6) gehören zu den acideren *ortho*-OH-Gruppen der Catechole. Die wahre Säurestärke der *ortho*-Hydroxyl-Gruppe ist höher als die der *meta*-Gruppen. Dies ist vor allem auf die Wasserstoffbrückenbindung der *ortho*-Hydroxylgruppe mit den Carbonylamiden zurückzuführen [Llinas *et al.*, 1973].

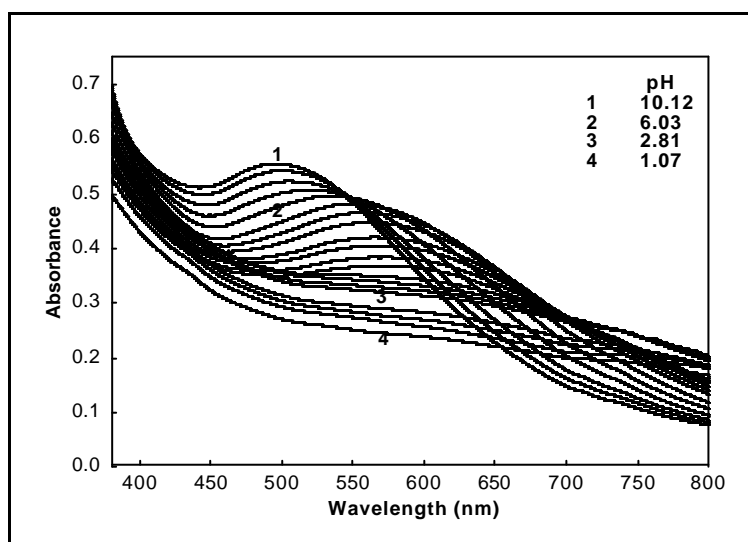
Die potentiometrischen Titrationskurven für beide Liganden in Gegenwart äquivalenter Konzentrationen von Fe<sup>3+</sup> (**Abb. 28**, Kurven c und d) zeigen einen klaren Wendepunkt bei  $\alpha = 6$ . Bei diesem Wert sind beide Ligandlösungen dunkelrot gefärbt. Ihre Absorptionsmaxima liegen im UV/VIS-Spektrum bei den Wellenlängen  $\lambda_{\max} = 488$  nm ( $\epsilon = 4610$  M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>) für Fe(III)-H<sub>6</sub>L<sub>A</sub> und  $\lambda_{\max} = 484$  nm ( $\epsilon = 5390$  M<sup>-1</sup>cm<sup>-1</sup>) für Fe(III)-H<sub>6</sub>L<sub>B</sub>, die als typische Ligand-Metall-Charge-Transfer-(LMCT)-Banden identifiziert werden konnten [Gordan *et al.*, 1982; Ballhausen, 1960]. Diese Werte korrespondieren sehr gut mit dem Tris-Komplex aus *N,N*-Dimethyl-2,3-dihydroxybenzamid und Fe<sup>3+</sup> das hier als Modellverbindung herangezogen wurde [Avdeef *et al.*, 1978]. Die UV/VIS-Spektren gleichen den UV/VIS-Spektren vieler Komplex-Verbindungen, in denen Fe<sup>3+</sup> durch drei zweizählige Liganden, wie z. B. durch sechs phenolische Sauerstoffe, koordiniert ist [Gerard *et al.*, 1994].

Die spektrophotometrischen und potentiometrischen Titrations zeigten, dass bei pH > 9,5 nur ein Komplex vorliegt, in dem die sechs phenolischen Hydroxylgruppen deprotoniert sind. Somit konnten die tiefroten Komplexe als Fe(III)L<sub>A</sub><sup>3-</sup> und Fe(III)L<sub>B</sub><sup>3-</sup> identifiziert werden, in denen Eisen durch die sechs phenolischen Sauerstoffe der drei Hydroxybenzoylgruppen koordiniert wird.



Die Titrationskurven von  $\text{Fe(III)-H}_6\text{L}_A$  und  $\text{Fe(III)-H}_6\text{L}_B$  sind erst ab einem pH-Wert von 4,3 bzw. 3,7 reproduzierbar, da unterhalb dieser pH-Werte bei beiden Komplexen ein dunkler Niederschlag ausfällt. Dieser Feststoff ergibt beim Gegentitrieren eine tiefrote Lösung. Nach der Erhöhung des pH-Werts auf 9,5 konnten die Originalspektren der  $\text{Fe(III)L}_A^{3-}$ - und  $\text{Fe(III)L}_B^{3-}$ -Komplexe wieder erzeugt werden. Der purpurne Feststoff ist also eine neutrale und unlösliche Eisenverbindung, welche reversibel in definierte Zustände zurückgeführt werden kann und somit kein entartetes Reaktionsprodukt ist. Diese Beobachtung wurde ebenfalls für einen  $\text{Fe}^{3+}$ -MECAM-Komplex in wässriger Lösung gemacht [Harris *et al.*, 1979].

Die eigentliche Bestimmung der Protonierungskonstanten der  $\text{Fe}^{3+}$ -Komplexe erfolgte durch spektrophotometrische Titration über die Intensitätsänderungen der LMCT-Banden der Eisenkomplexe (**Abb. 29**).



**Abb. 29:** UV/VIS-Spektrum von  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{H}_n\text{L}_A$  als Funktion des pH-Werts von  $\text{pH} = 1,07 - 10,12$ ; Versuchsbedingungen:  $\text{H}_6\text{L}_A + \text{Fe}^{3+}$ , 1:1,  $1,25 \times 10^{-4}$  M;  $T = 298$  K und  $\mu = 0,10$  M  $\text{NaClO}_4$

Bei genauer Titration über einzelne begrenzte pH-Bereiche fanden sich fünf verschiedene isosbestische Punkte für beide  $\text{Fe}^{3+}$ -Siderophorkomplexe (siehe **Tab. 2**).

An diesen Punkten existiert jeweils ein Gleichgewicht zwischen zwei verschiedenen Metallkomplexarten.

**Tab. 2: Isosbestische Punkte der  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{H}_6\text{L}_\text{A}$  und  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{H}_6\text{L}_\text{B}$ -Komplexe**

$\text{Fe}^{\text{III}}\text{H}_6\text{L}_\text{A}$		$\text{Fe}^{\text{III}}\text{H}_6\text{L}_\text{B}$	
Wellenlänge [nm]	pH-Bereich	Wellenlänge [nm]	pH-Bereich
515	9,05 – 10,12	491	9,85 - 11,17
534	8,01 – 9,05	526	8,52 - 9,56
546	6,03 – 8,01	556	7,22 – 8,13
605	4,41 – 6,03	571	5,49 – 6,97
704	1,07 – 4,41	682	3,82 – 4,70

Beim ersten isosbestischen Punkt handelt es sich um einen Ein-Protonenübertragungsschritt, wie in Gl. 2 dargestellt. Die Protonierungskonstante ist durch Gl. 3 definiert:



$$K_{\text{FeHL}} = \frac{[\text{FeHL}^{2-}]}{[\text{FeL}^{3-}][\text{H}^+]} \quad (3)$$

Die weiteren vier isosbestischen Punkte wurden ebenfalls als aufeinander folgende Ein-Protonenübertragungsschritte interpretiert. Die dazugehörigen Gleichungen sind unter **Gl. 4** angegeben. Die Protonierungskonstanten sind über **Gl. 5** definiert.



$$K_{\text{FeH}_n\text{L}} = \frac{[\text{FeH}_n\text{L}^{-3+n}]}{[\text{H}_{n-1}\text{L}^{-4+n}][\text{H}^+]} \quad (5)$$

Für die  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}^{3-}$ -Komplexe wurden die Protonierungskonstanten mit Hilfe der spektroskopischen Daten über das LETAGROP-SPEFO-Programm [Sillen *et al.*, 1968] berechnet. Das Protonenübertragungsmodell geht mit den berechneten Daten konform, was auch anhand der kleinen Standardabweichungen deutlich wird (**Tab. 3**). Die ersten drei Protonierungskonstanten zeigen, wie auch bei den potentiometrischen Messungen, in ihren Werten deutliche Unterschiede. Das Auftreten des Niederschlags bei niedrigen pH-Werten hatte jedoch zur Konsequenz, dass keine Absorption mehr zu beobachten war und somit die 6. Protonierungskonstante nicht bestimmt werden konnte.

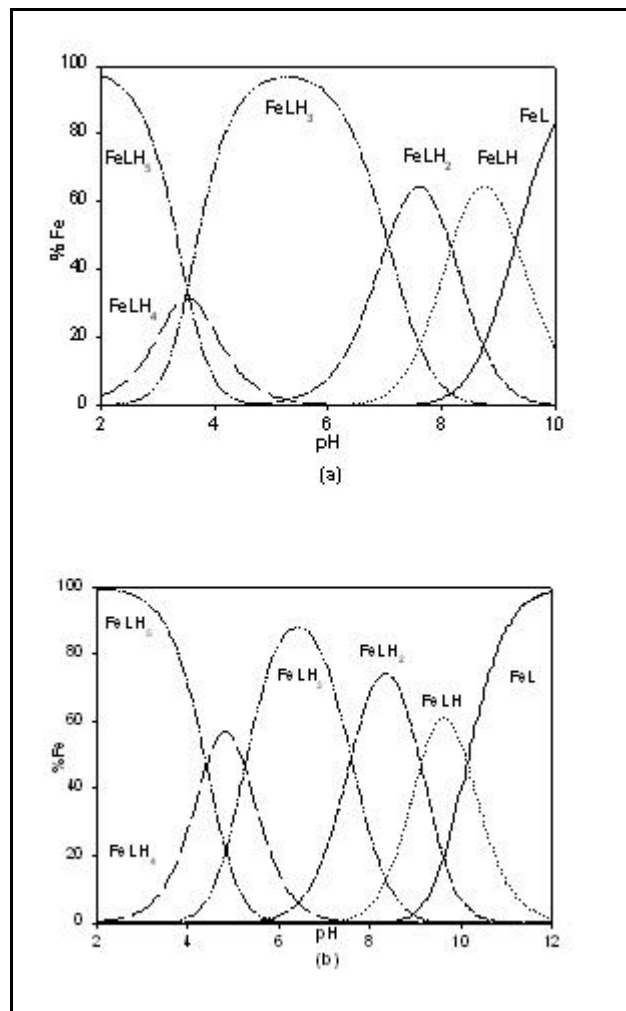
**Tab. 3: Protonierungskonstanten für die  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{H}_6\text{L}$ -Komplexe<sup>a</sup>**

$\log K_{\text{MHnL}}^{\text{b}}$	$L_A$	$L_B$
n = 1	$9,31 \pm 0,07$	$10,12 \pm 0,26$
n = 2	$8,16 \pm 0,16$	$9,12 \pm 0,24$
n = 3	$7,05 \pm 0,19$	$7,59 \pm 0,12$
n = 4	$3,49 \pm 0,09$	$5,72 \pm 0,21$
n = 5	$3,56 \pm 0,19$	$5,25 \pm 0,13$

<sup>a</sup>Messbedingungen: T = 298 K und  $\mu = 0.10 \text{ M NaClO}_4$ ; <sup>b</sup> definiert über Gleichung (5)

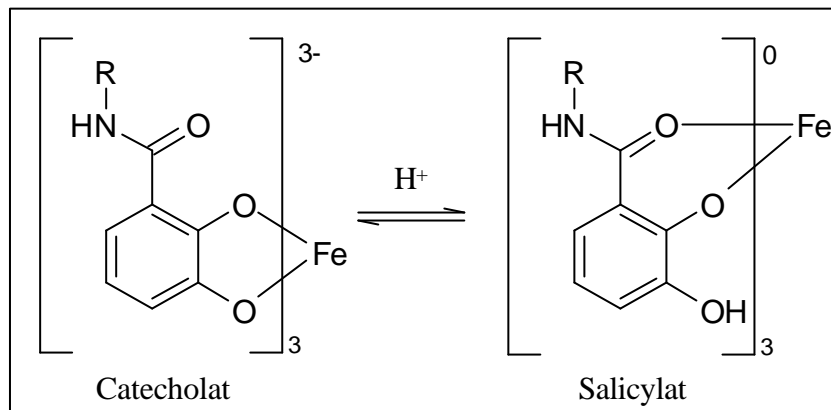
### 3.2.1.2 Komplexstabilität und Strukturverteilung

Die Protonierungskonstanten, die für  $\text{Fe}^{\text{III}}L_A^{3-}$  und  $\text{Fe}^{\text{III}}L_B^{3-}$  bestimmt wurden, konnten für die Erstellung von Verteilungskurven verwendet werden. Diese stellen die jeweiligen Konzentrationen der Komplexverbindungen in Abhängigkeit vom pH-Wert dar (**Abb. 30**).



**Abb 30: Berechnete Verteilungskurven für die  $\text{Fe}^{3+}$ -Komplexe von (a)  $\text{H}_6L_A$  und (b)  $\text{H}_6L_B$ .** Metallhaltige Komplexformen wurden auf die Gesamtkonzentration des Eisens berechnet. Messbedingungen:  $\text{H}_6L_A/\text{H}_6L_B + \text{Fe}^{3+}$ , 1:1; T = 298 K und  $\mu = 0,10 \text{ M NaClO}_4$

Über einen breiten pH-Bereich und vor allem unter physiologischen Bedingungen (pH~7) ist die Struktur  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{H}_3\text{L}$  die wahrscheinlichste für beide Komplexverbindungen. Hierbei ist es möglich, dass ein neutraler Komplex in einer Salicylat-Eisen-Komplex-Struktur, wie in **Abb. 31** dargestellt, vorliegt [Cohen *et al.*, 1998].



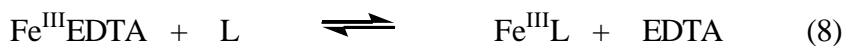
**Abb. 31:** Zwei mögliche Bindungsstrukturen für die  $\text{Fe}^{3+}$ -Chelatisierung (a) als Catecholat bzw. (b) als Salicylat

Die Komplexstabilitätskonstante des  $\text{Fe}^{3+}$ -Siderophor-Komplexes,  $\log\beta_{110}$  (**Gl. 7**) wurde für beide Komplexe  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_A^{3-}$  und  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_B^{3-}$  über das LETAGROP-SPEFO-Programm berechnet (Sillen & Warnqvist, 1968). Sie liegen jeweils in der gleichen Größenordnung wie die einfacher synthetischer Enterobactin-Analoga (**Tab. 4**).



$$b_{110} = \frac{[\text{FeL}^{3-}]}{[\text{Fe}_{\text{aq}}^{3+}][\text{L}^{6-}]} \quad (7)$$

Die Konzentrationen von  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_A^{3-}$  und  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_B^{3-}$  wurden spektrophotometrisch aus der Absorption bei den Wellenlängen 488 nm bzw. 484 nm ermittelt. Bei dieser Wellenlänge ist der  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}^{3-}$ -Komplex die einzige lichtabsorbierende Spezies. Alternativ wurde  $\log\beta_{110}$  mit Hilfe einer spektrophotometrischen Verdrängungstitration mit EDTA bei pH 9,9 bzw. 9,7 bestimmt. Entsprechend der Gleichgewichtsreaktion



ergibt sich aus **Gl. 9** die Konstante K.

$$K = \frac{[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}][\text{EDTA}]}{[\text{Fe}^{\text{III}}\text{EDTA}][\text{L}]} = \frac{b_{110}^{\text{FeL}}}{b_{110}^{\text{FeEDTA}}} \quad (9)$$

Daraus ergeben sich die Stabilitätskonstanten  $\log\beta_{110}$  für  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_A^{3-}$  und  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_B^{3-}$  mit 41,2 bzw. 46,1 in sehr guter Übereinstimmung zu der Berechnung nach **Gl. 7 (Tab. 4)**. Die Stabilitäten der Komplexe liegen außerdem in der gleichen Größenordnung wie die anderer synthetischer Siderophorkomplexe.

**Tab. 4:  $\text{Fe}^{3+}$ -Stabilitätskonstanten von  $\text{L}_A$  und  $\text{L}_B$ <sup>a</sup>**

Ligand	$\log\beta_{110}$	$\log\beta_{110}$	p[Fe]	Literatur
$\text{L}_A$	$41,38 \pm 0,11$ <sup>b</sup>	41,2 <sup>c</sup>	$28,6 \pm 0,3$	
$\text{L}_B$	$46,38 \pm 0,26$ <sup>b</sup>	46,1 <sup>c</sup>	$28,3 \pm 0,2$	
MECAM	46		29,1	[Harris <i>et al.</i> , 1979 (1), (2)]
TRENCAM	43,6		27,8	[Rodgers <i>et al.</i> , 1987]
CYCAM	40		23,0	[Harris <i>et al.</i> , 1979 (2)]
Enterobactin <sup>5</sup>	49		35,5	[Loomis <i>et al.</i> , 1991]

<sup>a</sup> Messbedingungen: T = 298 K und  $\mu = 0,10$  M  $\text{NaClO}_4$

<sup>b</sup> Gl. 7; <sup>c</sup> aus Verdrängungstitration mit EDTA

Um die  $\text{Fe}^{3+}$ -Bindungskapazität der Liganden  $\text{H}_6\text{L}_A$  und  $\text{H}_6\text{L}_B$  mit anderen  $\text{Fe}^{3+}$ -Chelatoren unter physiologischen Bedingungen zu vergleichen, mussten ihre p[Fe]-Werte bestimmt werden. Zur Berechnung wurden die Werte für  $-\log[\text{Fe}^{3+}]$  bei pH = 7,4 mit einer Ligandenkonzentration von  $[\text{L}]_{\text{tot}} = 10^{-5}$  M und einer  $\text{Fe}^{3+}$ Konzentration von  $10^{-6}$  M eingesetzt [Raymond *et al.*, 1984]. Die Konzentration der freien  $\text{Fe}^{3+}$ -Ionen in der Lösung wird durch **Gl. 10** beschrieben.

$$[\text{Fe}^{3+}] = \frac{[\text{FeL}]_{\text{tot}}}{\beta_{110}[(\text{L})_{\text{tot}} - (\text{FeL})_{\text{tot}}]} = \frac{aL}{9(a\text{FeL})\beta_{110}} \quad (10)$$

$$\text{p[Fe]} = -\log[\text{Fe}^{3+}] \quad (11)$$

Die p[Fe]-Werte für  $\text{H}_6\text{L}_A$  liegen bei  $28,6 \pm 0,3$ , für  $\text{H}_6\text{L}_B$  bei  $28,3 \pm 0,2$ . Beide Werte können sehr gut in die Reihe anderer synthetischer Enterobactinanaloga eingeordnet werden (**Tab. 4**) und liegen signifikant höher als der p[Fe]-Wert von Transferrin mit 23,6.

## 3.2.2 Trishydroxamat

### 3.2.2.1 Ligand-Deprotonierungskonstante

Stellvertretend für die dargestellten Trishydroxamate wurde die Verbindung Methyl-2,3,4-tris-*O*-[4-(*N*-hydroxy-*N*-methyl-carbamoyl)-*n*-butyryl]-*α*-*D*-glucopyranosid **33 e** ( $\equiv \text{H}_3\text{L}_C$ ) untersucht. Die Substanz ist in Wasser sehr gut löslich. Der Ligand  $\text{H}_3\text{L}_C$  ist eine Trihydroxamsäure, dessen 3 Deprotonierungskonstanten durch potentiometrische Titration bestimmt wurden. Die potentiometrischen Gleichgewichtskurven des freien  $\text{H}_3\text{L}_C$ - und seines  $\text{Fe}^{3+}$ -Komplexes werden in **Abb. 32** dargestellt. Die Ligand-Deprotonierungskonstanten  $K_{4-n}$  ( $n = 1, 2, 3$ ) sind über die **Gleichungen 12** und **13** definiert und in **Tab. 5** als  $\text{p}K_{4-n}(-\log(K_{4-n}))$  aufgeführt und analogen Trishydroxamatverbindungen gegenübergestellt.



$$K_{4-n} = \frac{[\text{H}_{n-1}\text{L}^{-4+n}][\text{H}^+]}{[\text{H}_n\text{L}^{-3+n}]} \quad (13)$$

**Tab. 5: Ligand- $\text{p}K_a$ -Werte für  $\text{H}_3\text{L}_C$  im Vergleich mit  $\text{p}K_a$ -Werten natürlicher und synthetischer Siderophore**

n	$\text{p}K_{4-n}^a$				
	$\text{H}_3\text{L}_C^b$	Desferrichrom <sup>c</sup>	Desferricrocin <sup>d</sup>	Desferrioxamin B <sup>c</sup>	TRENDROX <sup>e</sup>
n = 3	8,67 ± 0,03	8,11	8,14	8,39	8,58
n = 2	9,31 ± 0,01	9,00	9,01	9,03	9,33
n = 1	9,94 ± 0,01	9,83	9,92	9,70	10,30

<sup>a</sup> bestimmt über potentiometrische Titration; Messbedingungen: T = 298 K und  $\mu = 0,10$  M  $\text{NaClO}_4$

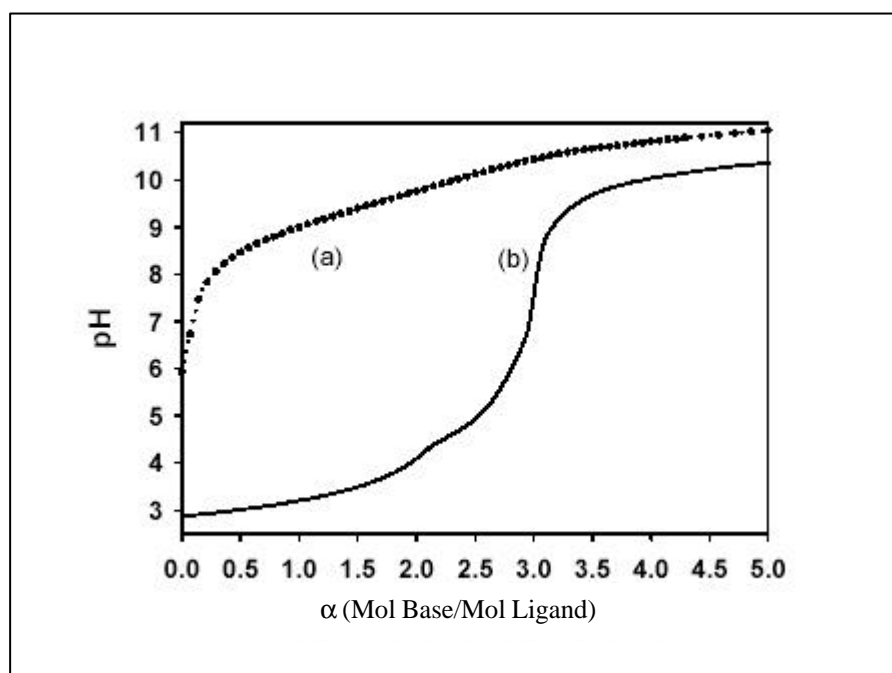
<sup>b</sup> definiert über Gl. 12; <sup>c</sup> [Andregg *et al.*, 1963; Schwarzenbach *et al.*, 1963]

<sup>d</sup> [Wong *et al.*, 1983]; <sup>e</sup> [Ng *et al.*, 1989]

Die Deprotonierungskonstanten für  $\text{H}_3\text{L}_C$  liegen im üblichen Bereich für Hydroxamsäuren mit  $\text{p}K_a$ -Werten von 8 - 10 [Brink *et al.*, 1982; 1985; Monzyk *et al.*, 1980] und stehen in guter Übereinstimmung mit den Trishydroxamaten aus **Tab. 5**. Die  $\text{p}K_a$ -Werte für  $\text{H}_3\text{L}_C$  liegen etwas höher als die der natürlichen Trishydroxamat-Siderophore wie Desferrichrom, Desferrioxamin B und Desferricrocin. Sie entsprechen jedoch den Werten für das synthetische Revershydroxamat TRENDROX. Die Deprotonierungskonstanten sind diskret voneinander getrennt. Somit liegt nahe, dass keine signifikanten intramolekularen Wechselwirkungen zwischen den drei Hydroxamatgruppen auftreten.

### 3.2.2.2 Fe<sup>III</sup>H<sub>3</sub>L<sub>C</sub>-Komplexe Gleichgewicht und Protonierungskonstanten

Die potentiometrische Titrationskurve für H<sub>3</sub>L<sub>C</sub> in Gegenwart von Fe<sup>3+</sup> zeigt, wie für die drei Protonen der Hydroxamatgruppen (**Abb. 32**) erwartet, einen Umkehrpunkt bei  $\alpha = 3$ . Die steile Kurve weist auf eine starke Fe<sup>3+</sup>-Bindung hin. Die Titrationskurve enthält zusätzlich einen weiteren, schwach ausgeprägten Umkehrpunkt bei  $\alpha = 2$  mol Base im pH-Bereich 4,3 - 4,7. Dies deutet auf eine schwache Fe<sup>3+</sup>-Bindung eines Bis-Hydroxamat-Komplexes hin. Die pH-Werte bei  $\alpha = 2,5$  und  $\alpha = 1,5$  repräsentieren die erste und zweite Protonierungskonstante von Fe<sup>III</sup>L<sub>C</sub>.

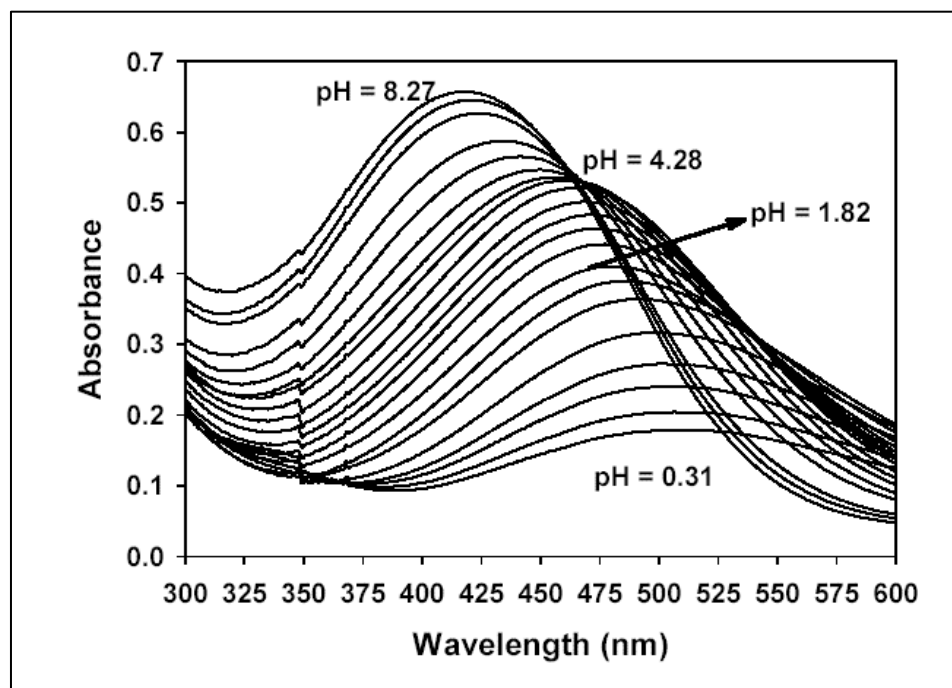


**Abb. 32:** Potentiometrische Titrationskurven des Hydroxamats: (a)  $5,9 \times 10^{-4}$  M H<sub>3</sub>L<sub>C</sub>; (b) H<sub>3</sub>L<sub>C</sub>/Fe<sup>3+</sup>: 1:1,  $5,9 \times 10^{-4}$  M; Messbedingungen: T= 298 K und  $\mu= 0,10$  M NaClO<sub>4</sub>

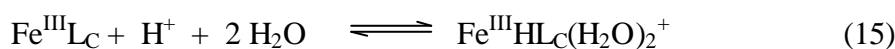
Die spektrophotometrische Titration des Fe<sup>III</sup>H<sub>3</sub>L<sub>C</sub>-Komplexes ermöglicht eine Bestimmung der Komplexprotonierungskonstanten (**Tab. 5**) durch die Änderungen der Absorption der intensiven LMCT-Bande des Metallkomplexes. Das UV/VIS-Spektrum vom Fe<sup>III</sup>H<sub>3</sub>L<sub>C</sub>-Komplex als Funktion des pH-Werts wird in **Abb. 33** dargestellt.

Das pH-abhängige Spektrum zeigt oberhalb von pH 8 mit einem Absorptionsmaximum bei 416 nm eindeutig einen Trishydroxamat-Komplex Fe<sup>III</sup>L<sub>C</sub>. Bei niedrigeren pH-Werten verschiebt sich das Absorptionsmaximum zu höheren Wellenlängen (465 nm). Dieser Wert korrespondiert mit dem ersten isosbestischen Punkt, welcher im pH-Bereich von 4- 8 liegt. Er weist auf ein einfaches Gleichgewicht zwischen zwei verschiedenen Metallkomplexen, und

zwar von  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_\text{C}$  und dem Bishydroxamat-Komplex,  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{HL}_\text{C}(\text{H}_2\text{O})_2^+$  hin. Die Gleichgewichtsreaktion beruht auf der Protonierung und der Dissoziation einer der drei Hydroxamatgruppen von  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_\text{C}$ . Bei der potentiometrischen Titration kann dieses Gleichgewicht dem Wert von  $\alpha = 2,5$  zugeordnet werden. Der dazugehörige pH-Wert von 4,8 liegt im Bereich des Logarithmus der ersten Protonierungskonstante des  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_\text{C}$ -Komplexes (Gl. 14).



**Abb. 33: Spektrophotometrische Titration: UV/VIS-Spektren von  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{H}_3\text{L}_\text{C}$  als Funktion des pH-Werts von pH = 0,31 - 8,27; Messbedingungen: T = 298 K und  $\mu = 0,10$  M  $\text{NaClO}_4$**



$$K_{\text{Fe}^{\text{III}}\text{HL}_\text{C}} = \frac{[\text{Fe}^{\text{III}}\text{HL}_\text{C}(\text{H}_2\text{O})_2^+]}{[\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_\text{C}][\text{H}^+]} \quad (16)$$

Eine weitere Senkung des pH-Werts bewirkt, dass sich das Absorptionsmaximum nochmals zu einer höheren Wellenlänge  $\lambda_{\text{max}} = 510$  nm ( $\epsilon = 950 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) verschiebt, wie sie für Mono-Hydroxamat-Eisen(III)-Komplexe typisch ist. Die Protonierung des Bishydroxamat-Komplexes  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{HL}_\text{C}(\text{H}_2\text{O})_2^+$  beinhaltet die Protonierung einer der zwei Hydroxamatgruppen, welche das  $\text{Fe}^{3+}$  koordinativ binden, und ihren Ersatz durch zwei Wasserliganden zu einem Mono-Hydroxamat-Eisen(III)-Komplex,  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{H}_2\text{L}_\text{C}(\text{H}_2\text{O})_4^{2+}$ . Die LMCT-Banden des Mono-



Komplexes verschwinden bei abnehmendem pH-Wert. Das Absorptionsmaximum bei  $\lambda_{\max} = 510$  nm bleibt jedoch erhalten. Die stete Abnahme der LMCT-Banden in Korrelation zur Absenkung des pH-Werts zeigt, dass sich die Konzentration von  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{H}_2\text{L}_\text{C}(\text{H}_2\text{O})_4^{2+}$  ständig verringert. Unterhalb von  $\text{pH} = 1$  kann dieser Komplex nicht mehr nachgewiesen werden. Hier hat sich die Dissoziation des Mono-Hydroxamat-Eisen(III)-Komplexes zu einem Hexaaquo-Eisen(III)-Komplex und dem freien, vollständig protonierten Liganden  $\text{H}_3\text{L}_\text{C}$  vollzogen. Bei diesem Experiment wurde nur unterhalb von  $\text{pH} < 0.3$  eine LMCT-Bande für den Mono-Hydroxamat-Eisen(III)-Komplex beobachtet. Dies deutet darauf hin, dass dieser Komplex nur bei sehr niedrigen pH-Werten stabil ist.

**Tab. 6: Protonierungskonstanten für  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_\text{C}$  und Ferrioxamin B**

	$\text{FeL}_\text{C}$		Ferrioxamin B	
	$\text{Fe}^{3+}$ <sup>b</sup>	$\text{Fe}^{2+}$ <sup>c</sup>	$\text{Fe}^{3+}$ <sup>b</sup>	$\text{Fe}^{2+}$ <sup>c</sup>
$\log K_{\text{FeH}_1\text{L}_\text{C}}$	$4,69 \pm 0,05$	$6,6 \pm 0,1$	$0,94^{\text{d}}$	$3,2^{\text{e}}$
	$4,2 \pm 0,2^{\text{f}}$			
$\log K_{\text{FeH}_2\text{L}_\text{C}}$	$2,41 \pm 0,10$	$5,1 \pm 0,2$		
$\log K_{\text{FeH}_3\text{L}_\text{C}}$	$0,61 \pm 0,22$	$4,0 \pm 0,2$		

<sup>a</sup> Messbedingungen:  $T = 298$  K und  $\mu = 0,10$  M  $\text{NaClO}_4$

<sup>b</sup> definiert über Gl. 16, 18, 20; <sup>c</sup> definiert über Gl. 24, 25;

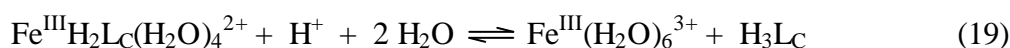
<sup>d</sup> [Evers *et al.*, 1989]; <sup>e</sup> [Boukhalfa und Crumbliss, 2002]

<sup>f</sup> berechnet aus elektrochemischen Daten

Das Protonierungs- und das anschließende Dissoziationsgleichgewicht für die zweite und dritte Protonierung wird in den **Gleichungen 17** und **19** beschrieben. Die entsprechenden Gleichgewichtskonstanten sind über **Gl. 18** und **20** definiert.



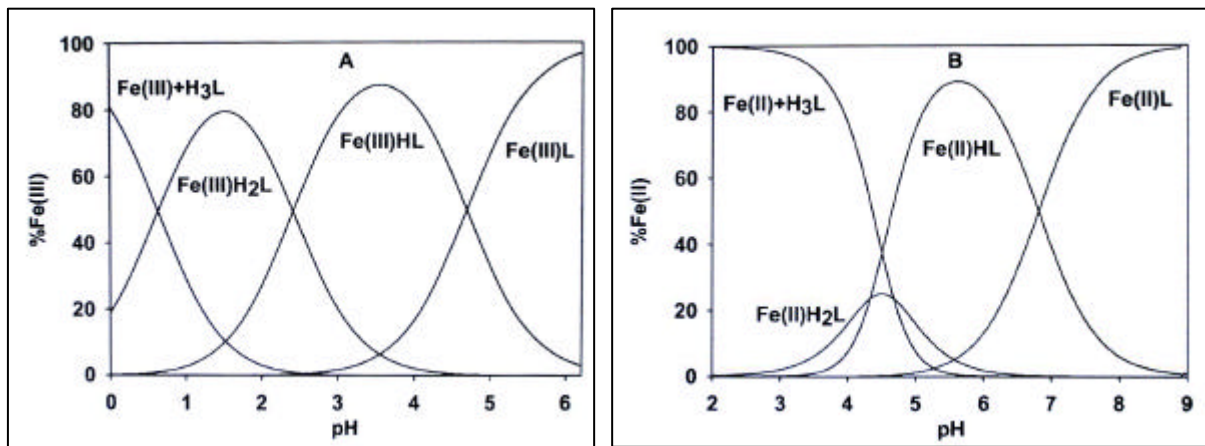
$$K_{\text{Fe}^{\text{III}}\text{H}_2\text{L}_\text{C}} = \frac{[\text{Fe}^{\text{III}}\text{H}_2\text{L}_\text{C}(\text{H}_2\text{O})_4^{2+}]}{[\text{Fe}^{\text{III}}\text{HL}_\text{C}(\text{H}_2\text{O})_2^+][\text{H}^+]} \quad (18)$$



$$K_{\text{Fe}^{\text{III}}\text{H}_3\text{L}_\text{C}} = \frac{[\text{Fe}^{\text{III}}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}][\text{H}_3\text{L}_\text{C}]}{[\text{Fe}^{\text{III}}\text{H}_2\text{L}_\text{C}(\text{H}_2\text{O})_4^{2+}][\text{H}^+]} \quad (20)$$

### 3.2.2.3 Komplexbildungskonstante und Verteilungskurve

Durch die Bestimmung der Protonierungskonstanten für  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_C$  war man in der Lage, eine Verteilungskurve für die Komplexspezies zu berechnen (**Abb. 34**). Sie zeigte, dass alle drei Hydroxamat-Komplexe,  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_C$ ,  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{HL}_C(\text{H}_2\text{O})_2^+$  und  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{H}_2\text{L}_C(\text{H}_2\text{O})_4^{2+}$  über einen weiten pH-Bereich als signifikante Komplexe existieren. Bei  $\text{pH}=1,5$  ist  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{H}_2\text{L}_C(\text{H}_2\text{O})_4^{2+}$  die Hauptkomponente, bei  $\text{pH}=3,6$   $\text{Fe}^{\text{III}}\text{HL}_C(\text{H}_2\text{O})_2^+$  und oberhalb von  $\text{pH}=6$  ist nur noch  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_C$  stabil.



**Abb. 34:** Berechnete Verteilungskurven für (A)  $\text{Fe}^{3+}$ - und (B)  $\text{Fe}^{2+}$ -Komplexe von  $\text{H}_3\text{L}_C$ . Metallhaltige Komplexformen wurden auf die Gesamtkonzentration des Eisens berechnet. Messbedingungen:  $\text{H}_3\text{L}_C + \text{Fe}^{3+}$ , 1:1,  $T = 298 \text{ K}$  und  $\mu = 0,10 \text{ M NaClO}_4$

Die Komplexstabilitätskonstante  $\log \beta_{110}$  ist, wie in **Kapitel 3.2.1** beschrieben, über die **Gleichungen 6** und **7** definiert. Die Konzentration von  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_C$  wurde aus der Absorption bei  $416 \text{ nm}$  berechnet, wo diese Spezies den einzig lichtabsorbierenden Komplex darstellt. Die über dieses Verfahren ermittelte Stabilitätskonstante hat einen Wert von  $31,1$ . Der so bestimmte Wert liegt damit im Bereich der Komplexstabilitätskonstanten von Ferrichrom und anderen natürlichen Siderophoren.

Um auch bei diesem Trishydroxamat-Monosaccharid-Siderophor einen Vergleich zu anderen Eisen(III)chelatoren bei physiologischen Bedingungen zu erhalten, wurde die freie Eisenkonzentration  $p[\text{Fe}]$  bei  $\text{pH} 7,4$  über die totalen Ligand- und  $\text{Fe}^{3+}$ -Konzentrationen in der Lösung bestimmt (siehe **Tab. 7**). Die Konzentration des freien  $\text{Fe}^{3+}$  in der Lösung kann über die **Gl. 11** berechnet werden.

Der für den Fe-Komplex von  $\text{H}_3\text{L}_C$  ermittelte  $p\text{Fe}$ -Wert von  $27,1$  ist mit den Werten von Desferrichrom und seinen Analoga vergleichbar. Gleichzeitig ist er signifikant größer als der für Transferrin ermittelte Wert von  $23,6$ , was bedeutet, dass die Substanz in der Lage ist  $\text{Fe}^{3+}$

aus Transferrin aufzunehmen. Auf die Verteilungskurve der  $\text{Fe}^{\text{II}}\text{-H}_3\text{LC}$ -Komplexe soll im folgenden Abschnitt eingegangen werden, da sie sich aus den elektrochemischen Untersuchungen erstellt wurde.

**Tab 7 : Thermodynamische Parameter von Fe-Siderophor-Komplexen**

Ligand	$\log\beta_{110}^{\text{a}}$		pFe <sup>b</sup>	E <sub>1/2</sub> vs NHE [mV]	Literatur
	Fe <sup>3+</sup>	Fe <sup>2+</sup>			
H <sub>3</sub> LC <sup>c</sup>	31,86 ± 0,11	12,1	27,1	-436	
Desferrichrom	29,07	9,9	25,2	-400	[Andregg <i>et al.</i> , 1963; Wawrousek <i>et al.</i> , 1982]
Desferricrocin	30,4	11,6	26,5	-412	[Wong <i>et al.</i> , 1983]
Desferrioxamin B	30,6	10,3	26,6	-468	[Schwarzenbach <i>et al.</i> , 1963; Spasojevic <i>et al.</i> , 1999; Bickel <i>et al.</i> , 1960; Cooper <i>et al.</i> , 1978]
TRENDROX	32,9	-	27,8		[Ng <i>et al.</i> , 1989]
Transferrin			23,6		[Harris <i>et al.</i> , 1979 (1)]

<sup>a</sup> definiert über Gl. 7

<sup>b</sup>  $-\log[\text{Fe}^{3+}]$  mit  $[\text{Fe}^{3+}]_{\text{tot}} = 10^{-6}$  M,  $[\text{Ligand}]_{\text{tot}} = 10^{-5}$  M und pH 7,4

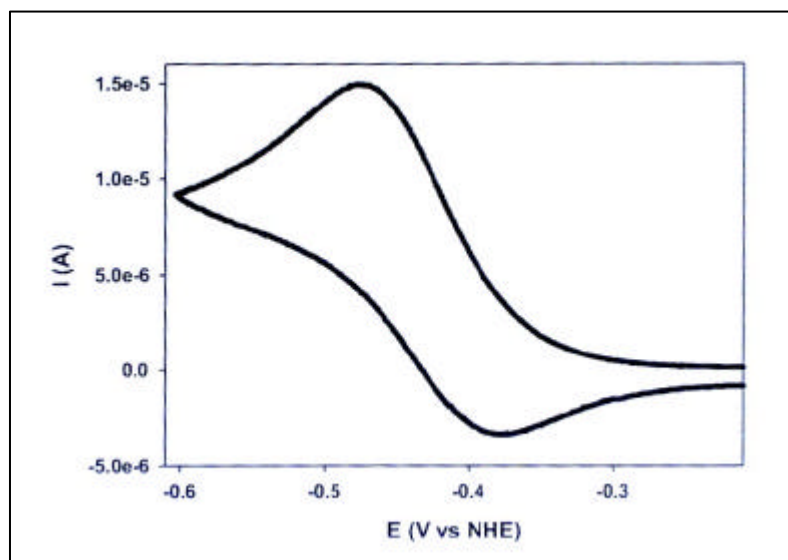
<sup>c</sup> Messbedingungen: T = 298 K und  $\mu = 0,10$  M NaClO<sub>4</sub>

### 3.2.2.4 Elektrochemische Untersuchungen und Fe<sup>2+</sup>-Chelatisierung

Für die Charakterisierung der Redoxkinetik von Komplexverbindungen in Lösung kann die Methode der Zyklovoltammetrie Anwendung finden. Bei einem sich zeitlich ändernden Potential werden hierbei die Stromdichten in Abhängigkeit vom Potential aufgezeichnet. Aus den Stromdichten ergibt sich die vom Komplex aufgenommene Ladung. Das Oxidations- und das Reduktionspotential sind direkt aus der Lage der Strommaxima ablesbar.

Strom-Spannungs-Diagramme eines reversiblen Systems in ruhender Lösung zeigen bei einem einmaligen Dreieckspannungsdurchlauf zunächst ein Strommaximum ( $S_{\text{ox}} + n\text{e}^- \rightarrow S_{\text{red}}$ ). Das Maximum für einen Ein-Elektronenübertragungsschritt ist dabei unabhängig von der Potentialanstiegsgeschwindigkeit. Nach Überschreiten des Peakpotentials erhält man im Rücklauf (anodischer Durchlauf) eine dem Verbrauch des Reaktionsproduktes  $S_{\text{red}}$  zuzuordnende Stromwelle.

Zyklovoltammetrische Untersuchungen am  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{LC}$ -Komplex ließen ein reversibles elektrochemisches Verhalten erkennen. Das Zyklovoltammogramm (Abb. 35) von  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{LC}$  für das  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ -Redoxpaar zeigt bei pH 9,5 ein Halbstufenpotential von  $E_{1/2} = -436$  mV vs NHE. Das negative Reduktionspotential für  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$  bedeutet eine wesentlich ausgeprägtere Affinität des Liganden  $\text{H}_3\text{LC}$  zu  $\text{Fe}^{3+}$  als zu  $\text{Fe}^{2+}$ .

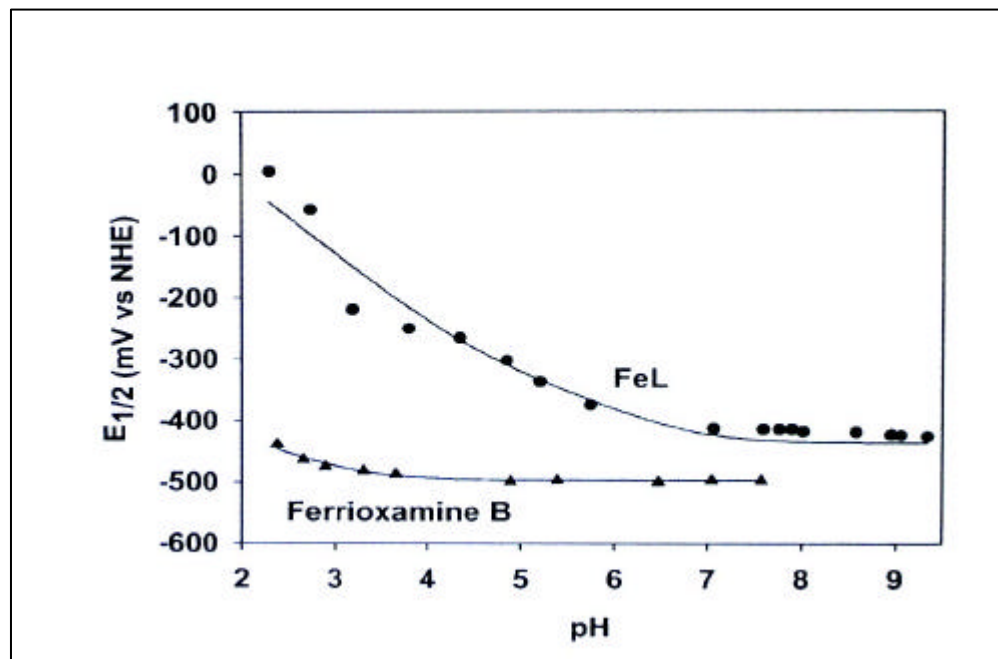


**Abb. 35:** Zyklovoltammogramm von  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{LC}$ ; Messbedingungen:  $[\text{Fe}] = 1 \times 10^{-3} \text{ M}$ ,  $[\text{H}_3\text{LC}] = 1 \times 10^{-2} \text{ M}$ ,  $\text{pH} = 9,5$ , HDME Arbeitselektrode, Scan-Rate = 100 mV/s,  $T = 298 \text{ K}$  und  $\mu = 0,10 \text{ M NaClO}_4$ ,  $E_{1/2} = -436 \text{ mV}$  (mit einer Peakauflösung von 90 mV)

Die Selektivität ist direkt proportional zu den Stabilitätskonstanten der  $\text{Fe}^{3+}$  und  $\text{Fe}^{2+}$  Siderophorkomplexe und wird durch **Gl. 21** definiert:

$$E_{\text{aqua}} - E_{\text{Komplex}}^{\circ} = 59,15 \log (\beta_{110}^{\text{III}} / \beta_{110}^{\text{II}}) \quad (21)$$

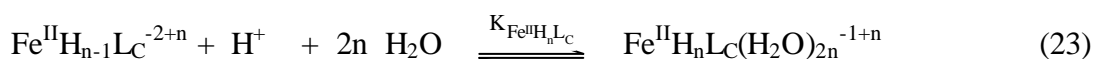
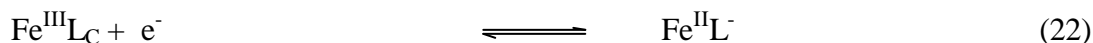
$\beta_{110}^{\text{III}}$  und  $\beta_{110}^{\text{II}}$  repräsentieren die Gesamtstabilitätskonstanten für die Oxidationsstufen  $\text{Fe}^{3+}$  und  $\text{Fe}^{2+}$ . Die Stabilitätskonstante für  $\text{Fe}^{\text{II}}\text{LC}$  wurde bereits in **Tab. 7** aufgeführt. Dieser Wert liegt in der gleichen Größenordnung wie die Werte für Desferrichrom und seine Analoga. Das Elektrodenpotential für die Leitsalzlösung von  $E_{\text{aqua}} = +732 \text{ mV}$  wurde der Arbeit von Spasojevic und Mitarbeitern [2001] entnommen.



**Abb. 36:**  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_\text{C}$ -Reduktionspotential ( $E_{1/2}$ ) in Abhängigkeit vom pH-Wert, Messbedingungen:  $[\text{Fe}] = 1 \times 10^{-3} \text{ M}$ ,  $[\text{H}_3\text{L}_\text{C}] = 1 \times 10^{-2} \text{ M}$ , HDME Arbeitselektrode, Scan-Rate = 100 mV/s,  $T=298 \text{ K}$  und  $\mu=0,10 \text{ M NaClO}_4$

Die pH-Abhängigkeit der Zyklovoltammogramme (Abb. 36) zeigt, dass bei Absenkung des pH-Werts ein allmählicher Anstieg des Reduktionspotentials für das  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ -Redoxpaar zu beobachten ist. Die Reversibilität der Zyklovoltammogramme bleibt bis zum pH-Wert von 7 bestehen. Unterhalb von pH 7 wurde Quasi-Reversibilität und letztendlich Irreversibilität beobachtet. Die Halbstufenpotentiale  $E_{1/2}$  für solche irreversiblen Zyklovoltammogramme wurden durch Annäherung über eine Peak zu Peak-Separation von 90 mV, bei  $\text{pH}=9.5$  berechnet.  $E_{1/2}$  ist stark pH-abhängig, was einer Protonierung und anschließenden Dissoziation der Hydroxamat-Gruppen des  $\text{Fe}^{2+}$ -Komplexes nach der Reduktion des  $\text{Fe}^{3+}$ -Komplexes zugeordnet werden konnte.

Die Gleichgewichtsreaktionen der Reduktion des  $\text{Fe}^{\text{III}}\text{L}_\text{C}$  über den experimentellen pH-Bereich werden durch die **Gleichungen 22 - 24** beschrieben. Die Protonierungskonstante des  $\text{Fe}^{2+}$ -Komplexes wird durch die Solvationsreaktion in Wasser bestimmt.



$$K_{\text{Fe}^{\text{II}}\text{H}_n\text{L}_\text{C}} = \frac{[\text{Fe}^{\text{II}}\text{H}_n\text{L}_\text{C}(\text{H}_2\text{O})_{2n}^{-1+n}]}{[\text{Fe}^{\text{II}}\text{H}_{n-1}\text{L}_\text{C}^{-2+n}][\text{H}^+]} \quad (24)$$

Die pH-Abhängigkeit der Reduktionspotentiale in **Abb. 36** korrespondiert mit vier einzelnen Ein-Protonen-Übertragungsreaktionen, drei Protonierungen des  $\text{Fe}^{2+}$ -Komplexes und einer Protonierung des  $\text{Fe}^{3+}$ -Hydroxamat-Komplexes. Für ein solches System kann das formale Reduktionspotential wie folgt beschrieben werden (**Gl. 25**):

$$E_f = E_{\text{Fe}}^{\circ} - 59,15 \log \left( \frac{\beta_{110}^{\text{III}}}{\beta_{110}^{\text{II}}} \right) + 59,15 \log (1 + K_{\text{Fe}^{\text{II}}\text{HL}_C} [\text{H}^+] + K_{\text{Fe}^{\text{II}}\text{HL}_C} K_{\text{Fe}^{\text{II}}\text{H}_2\text{L}_C} [\text{H}^+]^2 + K_{\text{Fe}^{\text{II}}\text{HL}_C} K_{\text{Fe}^{\text{II}}\text{H}_2\text{L}_C} K_{\text{Fe}^{\text{II}}\text{H}_3\text{L}_C} [\text{H}^+]^3) - 59,15 \log (1 + K_{\text{Fe}^{\text{III}}\text{HL}_C} [\text{H}^+]) \quad (25)$$

$E_f$  = Standardreduktionspotential für das  $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ -Redoxpaar in wässrigem Medium

$\beta_{110}^{\text{III}}$  und  $\beta_{110}^{\text{II}}$  = Stabilitätskonstanten für die  $\text{Fe}^{3+}$ - und  $\text{Fe}^{2+}$ - hexakoordinierten Siderophorkomplexe

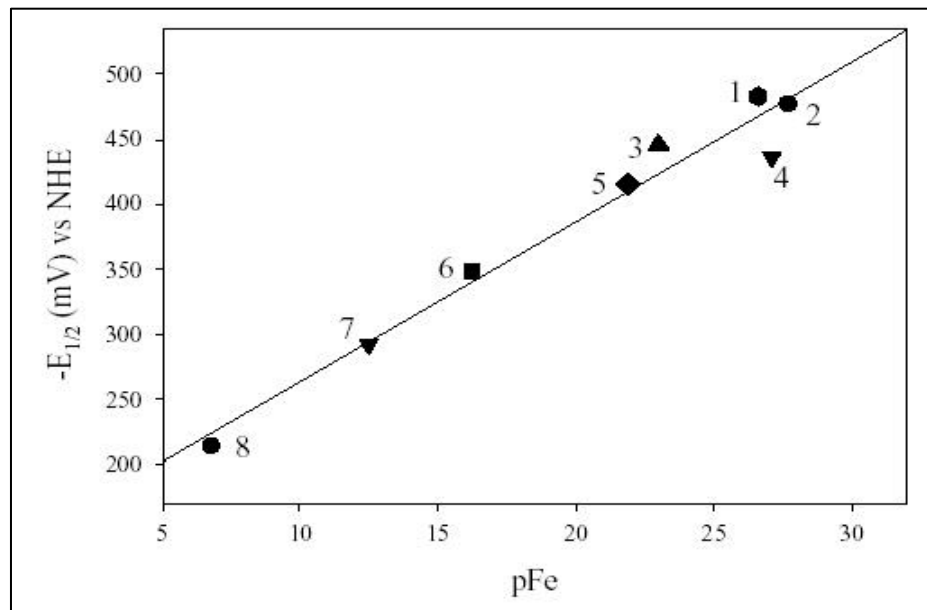
$K_{\text{Fe}^{\text{II}}\text{H}_n\text{L}_C}$  = Protonierungskonstanten des  $\text{Fe}^{2+}$ -Komplexes (aus **Gl. 23** und **24**)

$K_{\text{Fe}^{\text{III}}\text{HL}_C}$  = erste Protonierungskonstante des  $\text{Fe}^{3+}$ -Komplexes (aus **Gl. 15** und **16**)

In die **Gl. 25** wurde für  $K_{\text{Fe(III)HL}}$  der aus der spektrophotometrischen Titration gewonnene Wert  $10^{4,69}$  eingesetzt. Über eine nichtlineare Polynomrechnung unter Verwendung der Elektrodenpotentiale aus **Abb. 35** wurden die Protonierungskonstanten für die  $\text{Fe}^{2+}$ -Komplexe (**Tab. 6**) bestimmt. Aus diesen Konstanten wurde die Verteilungskurve der  $\text{Fe}^{\text{II}}\text{H}_3\text{L}_C$ -Spezies abgeleitet (**Abb. 34**). Hier sind drei klare Eisen(II)-Hydroxamat-Komplexe,  $\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_C^-$ ,  $\text{Fe}^{\text{II}}\text{HL}_C(\text{H}_2\text{O})_2$  und  $\text{Fe}^{\text{II}}\text{H}_2\text{L}_C(\text{H}_2\text{O})_4^+$  zu erkennen, welche in bestimmten pH-Bereichen jeweils als Hauptkomponenten vorliegen (pH = 4,6  $\text{Fe}^{\text{II}}\text{H}_2\text{L}_C(\text{H}_2\text{O})_4^+$ , pH = 5,8  $\text{Fe}^{\text{II}}\text{HL}_C(\text{H}_2\text{O})_2$  und pH = 8  $\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_C(\text{H}_2\text{O})$ ). Oberhalb von pH = 8 ist nur noch  $\text{Fe}^{\text{II}}\text{L}_C^-$  existent, die doppelt protonierte  $\text{Fe}^{2+}$ -Spezies  $\text{Fe}^{\text{II}}\text{H}_2\text{L}_C(\text{H}_2\text{O})_4^+$  hat in ihrem Maximum nur einen Anteil von 65%. Unterhalb von pH = 3,9 liegt der  $\text{Fe}^{\text{II}}\text{-H}_3\text{L}_C$ -Komplex vollständig zu  $\text{Fe}^{\text{II}}(\text{H}_2\text{O})_6^{2+}$  und freiem  $\text{H}_3\text{L}_C$  dissoziiert vor. Die aus **Gl. 25** und spektrophotometrisch ermittelten Werte zeigen für  $K_{\text{Fe(III)HL}} = 10^{4,69}$  bzw.  $10^{4,2}$  eine sehr gute Übereinstimmung und bestätigen damit die pH-Abhängigkeit der elektrochemischen Analyse.

So wie sich die Ligandstärke und Ligandarchitektur auf die Eisenkomplexstabilität auswirkt, kann sie ebenso das Redoxpotential beeinflussen. Der Graph in **Abb. 37** illustriert eine lineare Abhängigkeit des Redoxpotentials vom freien  $\text{Fe}^{3+}$ , dargestellt durch den p[Fe]-Wert einiger Eisen-Hydroxamat-Komplexe. Ein Anstieg der Ligandstärke erhöht die Komplexstabilität und zeigt sich im negativeren Redoxpotential. Mit der Abnahme der Ligandenstärke andererseits durch vier- und zweizählige Komplexe steigt das Redoxpotential und gleichzeitig der Gehalt

an freien Eisenionen und damit der  $p[\text{Fe}]$ -Wert. Die höheren  $\text{Fe}^{3+}$ -Komplexstabilitätskonstanten gegenüber den  $\text{Fe}^{2+}$ -Komplexstabilitätskonstanten zeigen ebenfalls, dass die  $\text{Fe}^{3+}$ -Komplexe stabiler sind als die  $\text{Fe}^{2+}$ -Komplexform. Diese Ergebnisse bestärken die These, dass *in vivo* das Entfernen von Eisen aus Siderophoren geringerer Stärke über einen reduktiven Prozess erfolgt. Dies mag ein Grund dafür sein, warum Organismen die notwendige Energie aufbringen, ein Siderophor zu hydrolysieren. [Boukhalfa & Crumbliss, 2002].



**Abb. 37: Reversibles Redoxpotential ( $-E_{1/2}$ ) in Abhängigkeit von der freien Eisenkonzentration  $p[\text{Fe}]$  für vollständig koordinierte  $\text{Fe}^{3+}$ -Komplexe natürlicher und synthetischer Hydroxamatsiderophore: 1. Ferrioxamin B, 2. Ferrioxamin E, 3. Alglicin, 4.  $\text{H}_3\text{LC}$ , 5. Rhodotorulinsäure, 6. *N*-Methylacetohydroxamsäure, 7. Acetohydroxamsäure, 8. *L*-Lysinhydroxamsäure [Spasojevic *et al.*, 1999; Dhungana *et al.*, 2002; Wirgau *et al.*, 2002]**

### 3.3 Mikrobiologische Testungen

#### 3.3.1 Untersuchung der Siderophoraktivität

Die Testung der synthetisierten Siderophor-Analoga im Vergleich zu einigen ausgewählten natürlichen Siderophoren erfolgte anhand ihrer wachstumsfördernden Wirkung auf gramnegative Bakterienstämme, die in ihrer Eisenversorgung gestört sind [Reissbrodt *et al.*, 1993; Schumann & Möllmann, 2000; Heinisch *et al.*, 2002]. Zum einen war die Biosynthese bestimmter Siderophore (z. B. Enterobactin, Aerobactin, Pyoverdin) gehemmt, bzw. es fehlten ihnen Rezeptorproteine (z. B. FepA) für den bakteriellen Eisentransport (Siderophor-Indikatorstämme) oder das für den Siderophortransport erforderliche Protein TonB. Zum anderen wurde die Testung mit so genannten Praxisstämmen, die unter Eisenmangelbedingungen gezüchtet wurden, durchgeführt. Die verschiedenen Testsysteme sollten über die spezifische Wirksamkeit der Siderophor-Analoga Auskunft geben.

Die Durchführung der mikrobiellen Experimente erfolgte in der Arbeitsgruppe von Frau Dr. Möllmann (HKI-Jena) und Herrn Dr. Reissbrodt (Robert Koch Institut, Wernigerode). Die Siderophoranaloga wurden in bidestilliertem Wasser gelöst und in einer Konzentration von 10 µM auf die Oberfläche der mit den Bakterienstämmen geimpften Agar-Testplatten appliziert. Die natürlichen Siderophore Desferrioxamin (Desferal-Mesylat, Sigma), Ferrichrom, Enterobactin und 2,3-Dihydroxybenzyliden-1,3,5-trimethylanilin wurden als Vergleichssubstanzen verwendet. Die Wachstumszonen um die aufgetragenen Verbindungen wurden nach einer Inkubationszeit von 24 - 48 h bei 37 °C bestimmt. Folgende gramnegative Bakterienstämme wurden hierbei verwendet: *Salmonella typhimurium* enb7 (Enterobactin-negativ), TA2700 (Enterobactin- und FebC-negativ), *E. coli* AB2847 (Aromatenbiosynthese-negativ), *E. coli* IR112 (aroB- und tonB-negativ), *Klebsiella pneumoniae* KN4401 (Enterobactin- und Aerobactin-negativ), *Morganella morganii* SBK3 (Wildtyp), *Yersinia enterocolitica* H5030 (Yersiniabactin-negativ) und *Pseudomonas aeruginosa* PAO6609 (Pyoverdin-negativ). Keine der getesteten Substanzen stimulierte das Wachstum der Indikatorstämme *P. aeruginosa* PAO6609, *Klebsiella pneumoniae* KN4401 und *E. coli* IR112, denen allen das TonB-Protein fehlte. Dieses Ergebnis lässt vermuten, dass die Gegenwart des TonB-Proteins essentiell für die Siderophoraktivität der untersuchten Substanzen ist. Die Resultate des Wachstumsförderungstests der Catecholverbindungen **2**, **3**, **9 a-f** und **10 a, c-e** wurden in **Tab. 8** aufgeführt. Alle neu synthetisierten Verbindungen zeigten Siderophoraktivität. Für die Biscatechol-Derivate **2** und **3** konnte ein geringer Einfluss



auf die Wachstumsförderung der Indikatorstämme *S. typhimurium* enb-7 und *E. coli* AB2847 beobachtet werden.

**Tab. 8: Wachstumsförderung von gramnegativen Bakterien durch Bis- und Tris-Catecholate bei Bakterienmutanten, die in ihrer Eisenversorgung gestört sind, Wachstumszonen (Durchmesser in mm), Substanz-Applikation 5 µg auf 6 mm Papierfilter**

Bakterienstamm	<i>S. typhimurium</i>		<i>E. coli</i>		M.	K.	Y.	<i>P. aeruginosa</i>
Verbindung	enb7	TA2700	AB2847	IR112	<i>morganii</i>	<i>pneumoniae</i>	<i>Enterocolitica</i>	PAO6609
					SBK3	KN4401	H5030	
<b>2</b>	10	0	0	0	0	0	0	0
<b>3</b>	17	0	10	0	0	0	0	0
<b>9 a</b>	15	10	0	0	0	0	0	0
<b>9 b</b>	0	n.b.	0	0	0	0	10	0
<b>9 c</b>	0	n.b.	0	0	0	0	0	0
<b>9 d</b>	0	n.b.	0	0	0	0	10	0
<b>9 e</b>	18	n.b.	0	0	0	0	0	0
<b>9 f</b>	18	n.b.	0	0	10	0	0	0
<b>10 a</b>	32	33	25	0	10	0	0	0
<b>10 c</b>	0	n.b.	0	0	0	0	0	0
<b>10 d</b>	0	n.b.	0	0	0	0	16	0
<b>10 e</b>	0	n.b.	0	0	24	0	0	0
Vergleichs-siderophor	28 <sup>a</sup>	30 <sup>b</sup>	28 <sup>c</sup>	22 <sup>c</sup>	22 <sup>d</sup>	26 <sup>b</sup>	18 <sup>c</sup>	30 <sup>b</sup>

a) Ferrioxamin b) Enterobactin; c) Ferrichrom d) 2,3-Dihydroxybenzyliden-1,3,5-trimethylanilin [Reissbrodt *et al.*, 1993] e) Desferal (2 µg); n.b. = nicht bestimmt

Die Triscatechol-Derivate zeigten unterschiedliche Wirkungen. Das Methyl-*a*-D-glucopyranosid **10 a** mit drei 2,3-Di(acetoxy)benzoyl-Liganden förderte das Wachstum der Indikatorstämme *S. typhimurium* enb7, TA2700 und *E. coli* AB2847 sehr stark, wies aber bei *M. morganii* und *Y. enterocolitica* keinerlei Aktivität auf. Dagegen förderte die Verbindung **10 d** das Wachstum bei *Yersinia enterocolitica* H5030. Die Siderophoranaloga **9 a-f** mit Tritylsubstituent zeigten kaum Wirkung.

In einer zweiten Experimentenreihe wurden die Catecholate **9 g**, **10 a, b, f, g**, **15 a, b** und **21** und die Hydroxamate **31 a**, **33 – 37 a**, **33 – 37 d** und **33 – 37 e** ebenfalls an den folgenden gramnegativen Stämmen aus dem antibakteriellen Screening, die unter Eisenmangelbedingungen gewachsen waren, getestet: *P. aeruginosa* ATCC27853, SG137, NCTC10662 and *E. coli* ATCC25922. Die Syntheseprodukte wurden als Desferrisiderophore eingesetzt (**Tab. 9**).

Die Benzyloxy-Derivate **31 – 32 b, c** und **31 d** als Edukte der entsprechenden freien Trishydroxamate wurden nicht getestet, da bei ihnen eine Eisenkomplexierung unmöglich ist. Die Trishydroxamate mit Benzoylgruppen **31 a – 37 a** zeigten keine relevante Aktivität. Die Verbindungen **35 a** und **36 a** waren dabei vollständig inaktiv, ebenso die Tribenzyl-*myo*-

inositol-Derivate **37 d** und **e** aufgrund ihrer Größe und stärker ausgeprägten Unpolarität. Die freien Trishydroxamate **34 d, e, g, 35 d, e, 35 d, 36 d** und **37 e** zeigten für alle Teststämme Aktivität. Offensichtlich besteht hier ein Zusammenhang zwischen der Länge der Spacergruppen und dem Kohlenhydratgrundgerüst. Das Galactosylderivat **34 e** mit längerem Spacer weist eine höhere Aktivität auf als die entsprechende Verbindung mit kürzerem Spacer **34 d**. Auf der anderen Seite zeigte das Glucosylderivat mit dem kürzeren Spacer **33 d** jedoch eine stärkere Aktivität als sein Pendant mit längerer Spacergruppe **33 e**.

Die freien OH-Gruppen der Triscatecholate **10 b, 10 f** und **10 g** sowie die acetylierte Verbindung **21** gestatten im Gegensatz zu dem entsprechenden Benzoxazin-Derivat **9 g** eine Siderophoraktivität. Die Benzylidenhydrazino-Derivate **15 a** (mit 2,3-Hydroxylgruppen) und **15 b** (mit Methoxycarbonyloxygruppen) zeigten ihre stärkste Aktivität gegenüber den *P. aeruginosa*-Stämmen.

**Tab. 9 Wachstumsförderung von gramnegativen Bakterien unter Eisenmangel**  
Wachstumszonen (Durchmesser in mm), Substanz-Applikation 10 µmol auf 6 mm Papierfilter

Bakterien- stamm Verbindung	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				<i>E. coli</i>		<i>S. typhi-</i> <i>murium</i>
	ATCC 27853	SG 137	NTCC 10662	ATCC 9027	K799/ WT	ATCC 25922	enb7
<b>9 g</b>	14	12	11	10	15	0	0
<b>10 b</b>	23	22	26	24	25	26	27
<b>10 f</b>	23	24	24	26	24	19	23
<b>10 g</b>	25	21	28	n.b.	23	27	20
<b>15 a</b>	25	23	25	22	20	15	14
<b>15 b</b>	16	18	17	0	15	0	0
<b>21</b>	20	23	25	n.b.	23	26	26
<b>31 a</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>33 a</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>33 d</b>	18	20	19	14	11	16	10
<b>33 e</b>	11	20	19	14	11	16	10
<b>34 a</b>	0	0	11	0	0	0	0
<b>34 d</b>	0	19	14	15	10	17	0
<b>34 e</b>	21	25	28	26	25	19	28
<b>35 a</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>35 d</b>	24	24	24	22	18	26	17
<b>36 a</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>36 d</b>	17	25	24	20	25	23	17
<b>36 e</b>	20	24	29	26	28	27	27
<b>37 a</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>37 d</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>37 e</b>	0	0	0	0	0	0	0
Vergleichs- siderophor	35 <sup>a</sup>	30 <sup>a</sup>	31 <sup>a</sup>	34 <sup>a</sup>	35 <sup>a</sup>	33 <sup>b</sup>	32 <sup>a</sup>

a) Desferal, b) Ferricrocin; n.b. = nicht bestimmt

Die Erkennung und spezifische Aufnahme der Siderophore für gramnegative Bakterien wurde mit Hilfe von *E. coli* - Mutanten untersucht. Mit dem Wildtyp AB2847 (enthält TonB-Protein) und der Mutante BR158 (TonB-Defizit) wurde die Bedeutung des TonB-Proteins für die Siderophoraktivität untersucht. Dieses Protein ist essentiell für die Energieübertragung bei allen aktiven Eisentransportvorgängen in gramnegativen Bakterien. Außerdem wurden *E. coli* K12-Mutantenstämme eingesetzt, denen die IROMPs (iron regulated outer membrane proteins) FepA, Cir und Fiu fehlten [Hantke, 1990]. Für die *E. coli*-Mutanten wurde das folgende Nährmedium verwendet: NaCl 0,5%, Tryptophan 0,8%, Agar 1%, 150 µmol Dipyridyl und 150 µmol EDDHA. Als Kontrollsubstanzen wurden 2,3-Dihydroxybenzoesäure (DHBA) und Ferricrocin eingesetzt (**Tab. 10**).

Die Untersuchungen wurden am Beispiel einiger ausgewählter Verbindungen durchgeführt: **33 e** und **36 e** als Trishydroxamate und **9 b**, **10 a**, **10 b**, **10 f**, **10 g** und **21** als Vertreter der Triscatecholate. Alle getesteten Verbindungen förderten das Wachstum der Wildtyp-Stämme AB2847 (TonB+), H1443 (TonB+), und der Mutanten H1875 (TonB+ und Fiu+). Jedoch konnte keine einzige Verbindung das Wachstum der TonB-negativen Mutante BR158 anregen. Dies bestätigt wiederum die These, dass das Protein TonB eine notwendige Voraussetzung für den aktiven Transport und die Siderophoraktivität dieser Verbindungen ist.

Die Trishydroxamate **33 e** und **36 e** und Ferricrocin zeigten bei allen Catecholatrezeptor-Mutanten H1876, H873, H1877 und H1875 Aktivität. Hierdurch wird die Annahme untermauert, dass die Siderophoraktivität der Hydroxamate unabhängig von den Rezeptoren FepA, Cir und Fiu ist. Im Gegensatz dazu hängt die Aktivität der Catecholate **10 b**, **10 f**, **10 g** und **21**, wie auch die von 2,3-DHBA, entscheidend von den Rezeptoren Cir und Fiu ab. Dies wird erkennbar im vollständigen Aktivitätsverlust gegenüber der Fiu- und Cir-negativen Doppelmutante H1876.

Die Untersuchungen ergaben, dass synthetische Siderophoranaloge mit Monosaccharidgrundgerüsten sowohl mit Catechol- als auch Hydroxamatgruppen effiziente Siderophore bei gramnegativen Bakterien sind. Weitere Untersuchungen sind erforderlich, um diesbezüglich genauere Struktur-Wirkungsbeziehungen und die Eignung dieser Verbindungen als Antibiotikavektoren zu ermitteln. Dazu müssten Verbindungen dieses Typs mit geeigneten Ankergruppen zur Anbindung der Antibiotika synthetisiert werden.

**Tab. 10: Wachstumsförderung von *E. coli* - Stämmen und *K12*-Mutanten durch ausgesuchte Verbindungen;** Wachstumszonen (Durchmesser in mm), Substanz-Applikation 10  $\mu$ mol

Verbindung	AB2847	BR158	H1443	H1876	H873	H1877	H1875
TonB	+	-	+	+	+	+	+
FepA	+	+	+	-	-	-	-
Cir	+	+	+	-	+	+	-
Fiu	+	+	+	-	+	-	+
<b>9 b</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>10 a</b>	24	0	25	19	22	23	22
<b>10 b</b>	32	0	32	0	27	25	25
<b>10 f</b>	25	0	26	0	25	25	22
<b>10 g</b>	25	0	25	0	24	21	22
<b>21</b>	29	0	31	0	27	25	25
<b>33 e</b>	23	0	23	24	21	22	23
<b>36 e</b>	24	0	25	26	25	27	27
2,3-DHBA <sup>x</sup>	330	0	32	0	30	27	30
Ferricrocin	30	0	30	30	31	32	33

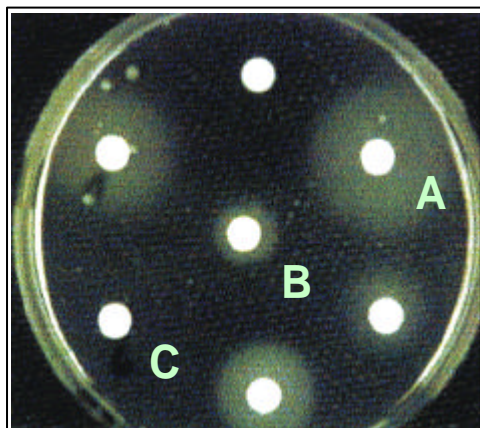
<sup>x</sup>=2,3-Dihydroxybenzoesäure

### 3.3.2 Wirkung auf Mykobakterien

Wie im Allgemeinen Teil (2.3.2) beschrieben, werden zur Überwindung von Zellmembranen in Mykobakterien aufgrund des zweiphasigen Exochelin/Mycobactin-Mechanismus ausschließlich Siderophore benötigt, die eine höhere Affinität zu  $\text{Fe}^{3+}$ -Ionen besitzen als Exochelin. Die neu synthetisierten Verbindungen wurden auf ihre Wirkung als Promotoren für das Wachstum von Mykobakterien (Abb. 38), wie den Wildtyp-Stämmen von *Mycobacterium smegmatis* mc<sup>2</sup>155 und SG 987 und ihrer Eisentransport-Mutanten M10 (Exochelin-negativ), M24 (Mycobactin-negativ), B1 (Exochelin-negativ), B3 (Mycobactin- und Exochelin-negativ) und U3 (gehemmt in der Mycobactin-Biosynthese und der Exochelin-Aufnahme), untersucht [Schumann *et al.*, 1998; Schumann & Möllmann, 2000].

Als Kontrollsubstanz wurde Mycobactin verwendet (Tab. 11). In diesen Tests zeigten die Verbindungen **9 f**, ein Derivat mit verlängertem Spacer und mit Tritylgruppe, und **10 e** ein Derivat ohne Tritylrest die stärkste Aktivität bei der Wachstumsförderung der eingesetzten Stämme. **9 f** zeigte Wirkung bei B<sub>3</sub> und **10 a** bei B<sub>3</sub> und U<sub>3</sub>, damit überwinden diese beiden Verbindungen beide Stufen des Eisentransports in Mykobakterien und sind Kandidaten für Antibiotikakonjugatsynthesen. Die Verbindungen **9 a-e** und **10 c-e** waren nur schwach aktiv. Die Verbindungen **9 a-e** förderten jedoch selektiv das Wachstum der SG987-, mc<sup>2</sup>155, M10- und der B<sub>1</sub>-Mutanten. Ihr Eisentransport ist somit unabhängig vom Exochelin. **10 c-e**

förderten dagegen nur das Wachstum bei den  $mc^2155$  und B<sub>1</sub> - Mutanten. Für die Verbindungen **2** und **3** konnte keine Aktivität festgestellt werden.



**Abb. 38:** Wachstumsförderung eines Mykobakterienstamm durch verschiedene Siderophore: A starkes Wachstum; B schwaches Wachstum; C kein Wachstum

**Tab. 11:** Wachstumsförderung verschiedener Stämme von Mykobakterien durch Bis- und Tris-Catecholate; Wachstumszonen (Durchmesser in mm), Substanz-Applikation 5  $\mu\text{g}$  (davon 2  $\mu\text{g}$  Mycobactin) auf 6 mm Papierfilter

	SG987	M10	$mc^2155$	M24	B <sub>1</sub>	B <sub>3</sub>	U <sub>3</sub>
Verbindung							
<b>2</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>3</b>	0	0	0	0	0	0	0
<b>9 a</b>	9	16	15	0	10	0	0
<b>9 b</b>	14	15	15	0	13	0	0
<b>9 c</b>	0	13	0	0	10	0	0
<b>9 d</b>	13	14	16	0	13	0	0
<b>9 e</b>	10	13	12	0	11	0	0
<b>9 f</b>	28	20	30	8	25	22	0
<b>10 a</b>	23	20	30	8	25	0	0
<b>10 c</b>	0	0	13	0	17	0	0
<b>10 d</b>	10	0	14	0	15	0	0
<b>10 e</b>	10	0	14	0	15	29	25
Mycobactin	17	17	19	19	16	14	14

In einer weiteren Testreihe wurden die Catecholate **9 g**, **10 b, f, g**, **15 a, b** und **21** und die Hydroxamate **31 a**, **32 a**, **33 – 37 a**, **33 – 37 d** und **33**, **34**, **36**, **37 e** auf ihre wachstumsfördernde Wirkung auf Mykobakterien (**Tab. 12**) untersucht.

Die wachstumsfördernde Wirkung der Trishydroxamate als Desferriverbindungen auf Mykobakterien ist auf die *myo*-Inositol-Derivate **37 d, e** und des Xyloederivats **36 e** beschränkt. Die Tribenzyl-*myo*-Inositol-Derivate **37 d** und **e** wiesen am Wildtyp-Stamm  $mc^2155$  und der Mutante B<sub>1</sub> Aktivitäten auf, **36 e** nur an B<sub>1</sub>. Im Gegensatz zu allen anderen

aufgeführten Stämmen sind diese beiden Stämme in der Lage, Mycobactin zu synthetisieren. Die Desferri-Triscatecholate **10 a**, **10 f** und **10 g** und **15** zeigten ebenfalls gegenüber den Stämmen mc<sup>2</sup>155 und der Mycobactin-Mutante M24 oder der Exochelin-Mutante B<sub>1</sub> Aktivität. Alle drei Stämme haben das Potential für einen Ligandenaustausch mit entweder Exochelin oder Mycobactin, um Eisen in die Bakterienzelle zu transportieren.

Einige ausgewählte Verbindungen wurden zusätzlich als Eisenkomplex (Ferrisiderophor) untersucht. Die Eisenkomplexe wurden durch Titration des entsprechenden Desferrisiderophors mit FeCl<sub>3</sub> hergestellt. Über die Reaktion mit Chromazurol S wurde sichergestellt, dass kein Überschuss an Eisenionen vorhanden war. Eine wachstumsfördernde Wirkung bei den Mutanten B<sub>3</sub> und U<sub>3</sub>, bei denen solch ein Ligandenaustausch ausgeschlossen ist, zeigten die Eisenkomplexe aller untersuchten Trishydroxamate, mit Ausnahme der *myo*-Inositol-Derivate **37 d** und **e** und der Verbindung **34 d** bei U<sub>3</sub>.

**Tab. 12:** Wachstumsförderung von Mykobakterien durch Catecholate und Hydroxamate mit und ohne Eisen(III); Wachstumzonen (Durchmesser in mm), Substanz-Applikation 10 µM (davon 2 µg Mycobactin) auf 6 mm Papierfilter

Verbindung	mc <sup>2</sup> 155		M24		B1		B3		U3	
	-Fe	+Fe	-Fe	+Fe	-Fe	+Fe	-Fe	+Fe	-Fe	+Fe
<b>9 g</b>	10	n.b.	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.
<b>10 b</b>	20	32	0	27	18	30	0	16	0	15
<b>10 f</b>	15	23	8	22	14	23	0	0	0	0
<b>10 g</b>	24	30	0	18	21	32	0	14	0	13
<b>15 a</b>	0	29	0	20	0	26	0	0	0	0
<b>15 b</b>	0	26	0	21	0	21	0	0	0	0
<b>21</b>	22	27	0	16	22	23	0	0	0	0
<b>31 a</b>	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.
<b>32 a</b>	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.
<b>33 a</b>	0	n.b.	0	n.b.	7	n.b.	0	n.b.	0	n.b.
<b>33 d</b>	0	18	0	22	0	21	0	15	0	16
<b>33 e</b>	0	24	0	27	0	27	0	12	0	12
<b>34 a</b>	9	n.b.	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.
<b>34 d</b>	0	22	0	15	0	21	0	13	0	0
<b>34 e</b>	0	36	0	33	0	36	0	28	0	26
<b>35 a</b>	0	n.b.	8	n.b.	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.
<b>35 d</b>	0	33	0	32	0	30	0	19	0	24
<b>36 a</b>	8	n.b.	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.
<b>36 d</b>	0	30	0	24	0	25	0	18	0	20
<b>36 e</b>	0	34	0	31	18	33	0	15	0	17
<b>37 a</b>	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.	0	n.b.
<b>37 d</b>	11	15	0	16	15	17	0	0	0	0
<b>37 e</b>	18	15	0	19	22	10	0	0	0	0
Ferrichrom		30		28		32		25	n.b.	22
Mycobactin	12	14	16	16	14	15	14	15	14.	16

\*n.b. = nicht bestimmt

Das auf einem Glucose-Grundgerüst basierende Triscatechol **10 f** und die Verbindungen **15 a**, **15 b** und **21** waren ebenfalls aktiv. Die aktiven Eisenkomplexe der Trishydroxamate könnten folglich als mögliche Transfervektoren für Antibiotika gegen Mykobakterien eingesetzt werden.

Die neu synthetisierten Trishydroxamate, insbesondere ihre Eisenkomplexe und die Triscatecholate, die auf den Monosaccharidgrundgerüsten von Methyl-*a-D*-glucopyranosid, Methyl-*a-D*-galaktopyranosid, Methyl-*a-D*-ribosepyranosid und Methyl-*a-D*-xylopyranosid basieren, können als artifizielle synthetische Siderophore in Mykobakterien agieren, jedoch nicht die hergestellten *myo*-Inositol-Derivate und Biscatecholate. Insbesondere die Catecholate **9 f** (aktiv bei B<sub>3</sub>), **10 e** (aktiv bei B<sub>3</sub>, U<sub>3</sub>) und die Fe<sup>3+</sup>-Komplexe der Hydroxamate **33 d**, **34 e**, **35 d** und **36 d, e** (aktiv bei B<sub>3</sub>, U<sub>3</sub>) zeigen auch bei Exochelin- und Mycobactinmangel gute Siderophorwirkung und können damit den normalerweise stattfindenden biphasischen Eisen-Transfer von Exochelin zu Myoglobin umgehen. Solche Verbindungen sind von großem Interesse als mögliche Transfervektoren für Antibiotika gegen Mykobakterien oder für weitere biologische Anwendungen, bei denen die Aufnahme des Eisens und dessen Metabolismus eine Rolle spielt. Im Folgenden gilt es zu prüfen, wie die Anbindung an Antibiotika zu realisieren wäre, ob eine direkte Verknüpfung möglich oder eine Anbindung über Spacer notwendig ist.

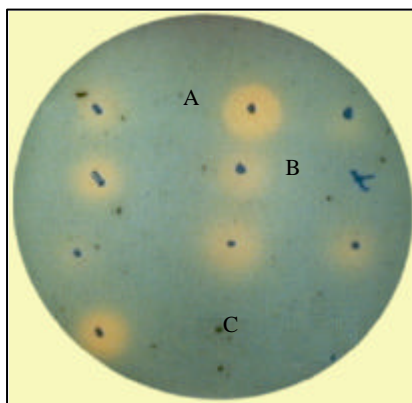
### 3.3.3 CAS-Test und Beziehungen zwischen Fe<sup>3+</sup>-Komplexbildung und Siderophorwirkung

Parallel zu den Wachstumsförderungstests wurde die relative Eisenkomplexbildung der neu synthetisierten Verbindungen mittels des Chromazurol-S (CAS)-Tests nach Schwyn & Neilands [1987] untersucht. Beim CAS-Test wird eine Lösung der zu untersuchenden Substanz auf das den Eisen-Chromazurol-S-Komplex enthaltende Medium gebracht. In Gegenwart starker Eisenkomplexbildner erfolgt eine Verdrängung des Eisens aus dem Farbkomplex, was durch eine Farbänderung von blaugrün zu gelb bis gelbbrot angezeigt wird (**Abb. 39**).

Eine positive CAS-Reaktion kann also mit einer Eisenchelatisierung assoziiert werden. Die Ergebnisse des CAS-Tests für die Siderophor-Analoga werden in **Tab. 13** dargestellt.

Hierbei fiel auf, dass die Biscatechol-Derivate keine Reaktion zeigten. Die stärkste Reaktion wiesen **10 a**, **10 b**, **10 e**, **10 f**, **10 g**, **33 d, e**, **34 d, e**, **35 d**, **36 d**, **36 e** und **37 d, e** auf. Die

geschützten Hydroxamate **31 - 37 a** und die Catecholate mit Benzoxazingruppe waren, wie zu erwarten, inaktiv.



**Abb. 39:** CAS-Test: positive Reaktionen, erkennbar an der typischen Gelbfärbung des Chromazurol-S-Komplexes; A = starke Reaktion; B = schwache Reaktion; C = keine Reaktion

**Tab. 13: CAS-Test-Ergebnisse**

Catechol-Verbindung	CAS-Test	Hydroxamat-Verbindung	CAS-Test
<b>2</b>	-	<b>31 a</b>	-
<b>3</b>	-	<b>33 a</b>	-
<b>9 a</b>	-	<b>33 d</b>	++
<b>9 b</b>	-	<b>33 e</b>	++
<b>9 c</b>	-	<b>34 a</b>	-
<b>9 d</b>	-	<b>34 d</b>	+
<b>9 e</b>	+	<b>34 e</b>	++
<b>9 f</b>	+	<b>35 a</b>	-
<b>9 g</b>	-	<b>35 d</b>	++
<b>10 a</b>	++	<b>36 a</b>	-
<b>10 b</b>	++	<b>36 d</b>	++
<b>10 c</b>	++	<b>36 e</b>	++
<b>10 d</b>	-	<b>37 a</b>	-
<b>10 e</b>	++	<b>37 d</b>	++
<b>10 f</b>	++	<b>37 e</b>	++
<b>10 g</b>	++	<ul style="list-style-type: none"> <li>• - keine CAS-Reaktion,</li> <li>• + schwache CAS-Reaktion,</li> <li>• ++ starke CAS-Reaktion;</li> <li>• Vergleichssiderophore ++</li> </ul>	
<b>15 a</b>	++		
<b>15 b</b>	+		
<b>21</b>	++		

Der CAS-Test steht in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen, die in **Abschnitt 3.2** bei den Siderophorwirkungen erzielt wurden. Eine genaue Untersuchung von Zusammenhängen von  $\text{Fe}^{3+}$ -Komplexstabilität und Siderophorwirkung war im Rahmen der Arbeit nicht möglich. Durch die exakte Bestimmung der beiden Referenzsubstanzen aus der Gruppe der Catecholate und Hydroxamate, welche im Vergleich zu starken natürlichen Siderophoren analoge



Komplexbildungskonstanten bzw. Komplexstabilitätskonstanten besitzen, können Rückschlüsse darauf gezogen werden, dass die im CAS-Test und in den Siderophortests effektivsten Chelatoren ebenfalls Komplexbildungskonstanten in diesem Bereich besitzen. Weiterhin zeigte sich, dass die Catecholatverbindung **10 b** (H<sub>6L<sub>B</sub></sub>) mit einer höheren Komplexstabilitätskonstante als die Catecholatverbindung **10 f** (H<sub>6L<sub>A</sub></sub>) eine bessere Siderophorwirkung erzielte. Die kürzere Spacerlänge erzielte vermutlich eine bessere Konfirmation des Chelatmoleküls zum Eisen(III) und damit eine bessere Komplexstabilität und ein bessere Siderophorwirkung.

### 3.3.4 Antibakterielle Testungen

Alle neuen Verbindungen wurden zusätzlich mikrobiell untersucht. In einem Agardiffusionstest [Europäisches Arzneibuch, 1997] wurden sie auf ihre Hemmzonendurchmesser (in mm) gegen folgende Bakterienstämme geprüft: *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Staphylococcus aureus* 134/93 (MRSA), *Staphylococcus aureus* SG511, die Stämme von *Pseudomonas aeruginosa* SG137, ATCC27853, NTCC10662 und ATCC9027, gegen die Mykobakterien *Mycobacterium smegmatis* SG987, *Mycobacterium aurum* SB66, *Mycobacterium phlei* mc<sup>2</sup>155 und *Mycobacterium vaccae* 10670 sowie gegen die Hefe *Sporobolomyces salmonicolor* 549.

Nur von Methyl-2,3,4-tri-*O*-(3-aminopropyl)-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid (**8**), einer Ausgangssubstanz für die Catecholatsynthesen, konnte eine gute Wirksamkeit nachgewiesen werden. Alle anderen Verbindungen waren unwirksam gegen die geprüften Bakterien

Die Ergebnisse der antibakteriellen Testung der Verbindung **8** sind in **Tab. 14** zusammengefasst. Zum Vergleich sind die entsprechenden Werte von Azlocillin, einem Acylureido-Penicillin, angeführt. Aus der Tabelle geht hervor, dass die geprüfte Substanz gegen einige Bakterienstämme die Hemmwerte der Vergleichssubstanz übertrifft und erfolgreich bakterielle Resistenzen überwinden kann. Die Verbindung könnte sich daher aufgrund ihrer antibakteriellen Eigenschaften zur Anwendung als Arzneimittel bei bakteriellen Infektionen, insbesondere mykobakteriellen Infektionen, eignen [DE 19942864 A1, 2001].

**Tab. 14: Wirksamkeit von Substanz 8 gegen verschiedene Bakterienstämme im Agardiffusionstest (Hemmzonen Durchmesser in mm)**

	Substanz 8	Azlocillin
<i>B. subtilis</i> ATCC6633	21	30
<i>S. aureus</i> 134/93 (MRSA)	15	0
<i>S. aureus</i> SG511	15	29
<i>P. aeruginosa</i> SG137	18	17
<i>P. aeruginosa</i> ATCC27853	16	20
<i>P. aeruginosa</i> NTCC10662	15	19
<i>P. aeruginosa</i> ATCC9027	19	21
<i>M. smegmatis</i> SG987	27	0
<i>M. aurum</i> SB66	22	0
<i>M. phlei</i> mc <sup>2</sup> 155	19	0
<i>M. vaccae</i> 10670	31	0
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i> 549	17	0

### 3.3.5 Wirksamkeit gegen den Malariaerreger *Plasmodium falciparum* in infizierten menschlichen Erythrocyten

Die Verbreitung der Antibiotika-Resistenz bei den Stämmen des Malariaerregers *Plasmodium falciparum* ist ein weltweites Gesundheitsproblem. Viele Antimalariamittel beeinflussen die Freisetzung des Eisens aus Hämoglobin durch den Parasiten. Da die Entwicklung des Malariaparasiten abhängig von einer ausreichenden Versorgung mit Eisen ist, sind Verbindungen, die Mikroorganismen Eisen entziehen, potentielle Antimalaria-Wirkstoffe.

Die Antimalariaaktivität dieser Verbindungen scheint mit dem Grad ihrer Lipophilie und somit ihrer Zellpermeabilität zu korrelieren. Die Arbeitsgruppe um Professor Weiss, Innsbruck untersuchte zwei in dieser Arbeit hergestellte Verbindungen im Rahmen anderer Catecholatsiderophore hinsichtlich des Parasitenwachstums von *Plasmodium falciparum* in infizierten menschlichen Erythrocyten (Tab. 15) [Rotheneder *et al.*, 2002].

**Tab. 15: Untersuchung der antiplasmodialen Aktivität, Toxizität und Reversibilität des antiplasmodialen Effekts verschiedenartiger Tris-Catecholatsiderophore**

Siderophor-Verbindung	LD <sub>50</sub> für Parasitenwachstum [µM]	Toxizität gegenüber K562-Zellen: LD <sub>50</sub> (% der Kontrolle) eines MTT-Tests*	Reversibilität des antiplasmodialen Effekts der Siderophore durch Eisensalze
<b>9c</b>	0,01	89	nein
<b>10e</b>	~2	86	nein
Dexrazoxane	~400	100	ja
DFO	~30	93	ja

\*MTT = [3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid]; ein MTT-Wert von 100% entspricht der Lebensfähigkeit von unbehandelten Kontrollzellen, ein Wert von 10% zeigt ein Zellsterben von 90% der Zellen an

Es zeigte sich, dass die Verbindungen Methyl-2,3,4-tris-*O*-{*N*-[3,4-di(methoxycarboxyloxy)-benzoyl]-aminopropyl}-6-*O*-trityl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **9 c** und Methyl-2,3,4-tris-*O*-[*N*-(8-methoxycarboxyloxy-3,4-dihydro-2H-1,3-benzoxazin-3-yl-acetyl)-aminopropyl]- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid **10 e** vergleichbare bzw. bessere Aktivitäten gegen den Erreger aufwiesen als das natürliche Siderophor Desferrioxamin B (DFO). Die Ergebnisse der lethalen Dosis gegenüber dem Parasitenwachstum lagen für **9 c** bei  $LD_{50} = 0,1 \mu\text{M}$ , für **10 e** bei  $LD_{50} \approx 2 \mu\text{M}$  und für DFO bei  $LD_{50} \approx 30 \mu\text{M}$ . Der Wert für **9 c** liegt >1000fach höher als der von DFO.

Die beiden Verbindungen wiesen lediglich eine geringe Toxizität gegenüber Säugetierzellen (K562-Zellen) auf. Im MTT-Test starben 11 bzw. 14 % der Zellen ab.

Weiterhin wurde der Einfluss der Zugabe von Eisensalzen in geringer Konzentration auf die Reversibilität des antiplasmodialen Effekts untersucht. Die meisten Catecholatverbindungen zeigten eine Reversibilität des antiplasmodialen Effekts und damit eine primäre Abhängigkeit ihrer Wirksamkeit vom zellulären Eisengehalt. Die beiden Verbindungen **9 c** und **10 e** zeigten keine Reversibilität. Die Siderophore agieren somit unabhängig vom intrazellulären Eisenreservoir nach einem alternativen Mechanismus. Dies lässt auf eine mögliche direkte Wirkung auf die essentiellen Enzyme von *Plasmodium falciparum* oder eine Störung der Eisenfreisetzung aus dem Hämoglobin schließen.

Die Ergebnisse der antiplasmodialen Aktivitäten und Toxizitäten legen nahe, dass diese neuen Siderophore attraktive Kandidaten bei der Suche nach neuen Antimalariawirkstoffen sein könnten.

## 4. EXPERIMENTELLER TEIL

### 4.1 Chemikalien

Die Trocknung der Lösungsmittel erfolgte nach den üblichen Labormethoden [Organikum, 1993]. Sofern nicht gesondert vermerkt wurde, erfolgte bei den anderen Stoffen keine weitere Reinigung. Chemikalien wurden bei den Firmen Fluka bzw. Aldrich erworben. 2,3-Dihydroxybenzoesäure wurde bei der Firma Acros Organics gekauft.

### 4.2 Messmethoden

#### 4.2.1 Potentiometrische Messungen

durchgeführt von der Arbeitsgruppe Prof. A.L. Crumbliss, USA

Die Verbindungen **10 b**, **10 f** und **33 c** wurden jeweils in 20 ml gelöst und in einer doppelwandigen Titrationszelle bei einer konstanten Temperatur von  $25 \pm 0,05$  °C unter Rühren vorgelegt. Die Lösungen wurden durch die Zugabe von 2,0 M NaClO<sub>4</sub> auf eine Ionenstärke von 0,10 M eingestellt. Die gesamte Lösung wurde vor der Titration mit Argon gespült. Für die Titration wurde eine Titronic 96 Standard-Bürette verwendet. Die Versuchsdaten wurden mit dem Programm SUPERQUAID analysiert [Gans *et al.*, 1985].

#### 4.2.2 Spektroskopische Messungen

##### 4.2.2.1 UV/VIS-Spektroskopie zur Messung der Fe<sup>3+</sup>-Komplexe

Die UV/VIS-Spektren wurden mit einem Cary 100 Spektrometer aufgenommen. Alle Lösungen wurden durch Zugabe von NaClO<sub>4</sub> auf eine Ionenstärke von 0,10 M eingestellt. Die UV/VIS-Spektren der Eisenkomplexe wurden als Funktion des pH-Werts aufgenommen und mit dem Programm LETAGROP-SPEFO [Sillen *et al.*, 1968] analysiert. In spektrometrischen Konkurrenzreaktionen mit EDTA wurden 5 ml der Proben vorher über Nacht bei 25 °C gerührt. Typische Lösungen hatten eine Konzentration von  $1 \times 10^{-4}$  M Fe<sup>3+</sup> und Ligand in einem sechsfachen Überschuss von EDTA (Aldrich). Die Protonierungs- und Fe<sup>3+</sup> Bildungskonstanten für EDTA entstammen Tabellenwerken von Martell und Smith [Martell & Smith, 1974].

### 4.2.3 Kernmagnetische Resonanzspektroskopie

$^1\text{H}$ - und  $^{13}\text{C}$ -NMR-Spektren wurden mit einem Bruker Advance DRX 300 MHz bzw. einem Bruker Advance DPX 500 MHz Spektrometer aufgenommen. Die chemischen Verschiebungen  $\delta$  wurden in ppm und die Kopplungskonstanten  $J$  in Hz angegeben.

### 4.2.4 Massenspektrometrische Messungen

Hochauflösende Massenspektren wurden mit einem Massenspektrometer der Marke Finnigan MAT 95 XV mit Elektrospray Ionisation (ESI) oder mittels eines ESI-MS: Triple-Quadrupol-Instruments Quatro (VG Biotech, Altrincham, England) aufgenommen.

### 4.2.5 Elementaranalyse

Die Elementaranalysen (C, H, N) wurden mit einem CHN-O-Rapid der Firma Foss/Heraeus Hanau gemessen.

### 4.2.6 Drehwertbestimmung

Die Drehwerte wurden mit dem Propol Polarimeter der Firma Dr. Kernchen gemessen.

## 4.2.7 Chromatographische Methoden

### 4.2.7.1 Dünnschichtchromatographie (DC)

Es wurden Alufolien Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Schichtdicke 0,2 mm der Firma Merck verwendet. Die Detektion erfolgte durch eine UV-Lampe (254 nm) oder durch das Anfärben mit einer Lösung aus Anisaldehyd/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>/EtOH in einem Verhältnis von 1:4:95 (v/v/v).

### 4.2.7.2 Säulenchromatographie

Für die Atmosphärendruckchromatographie wurde Kieselgel 60 (60 - 230 mesh) und für die Flashchromatographie Kieselgel 60 (20 - 60 mesh) der Firma Merck verwendet.

### 4.2.7.3 High Pressure Liquid Chromatography (HPLC)

Die Reinigung der Proben über präparative HPLC wurde an einer Abimed Gilson HPLC mit einem 115 UV-Detektor (234 nm) und einer Knauer-Vertex-Reversed-Phase-Säule (250 x 32 mm), gepackt mit Eurosper 100-C-18 (7 mm), durchgeführt. Die Säule wurde mit einem Gradienten von Acetonitril und Wasser eluiert, beginnend mit einem Verhältnis von 30:30 (v/v) wurde nach 25 Min. mit einem Flow von 20 ml/Min. das Verhältnis 100:0 (v/v) erreicht.

## 4.2.8 Elektrochemische Verfahren

Die elektrochemischen Untersuchungen fanden in der Arbeitsgruppe Crumbliss statt. Die Messungen der  $\text{Fe}^{3+}$ -Komplexe wurden in wässrigen 0,10 M  $\text{NaClO}_4$ -Elektrolytsystemen durchgeführt. Verwendet wurde ein EG&G Princeton Applied Research Potentiostat Model 263. Die Voltammogramme wurden mittels einer PowerCV Cyclovoltammetrie Software aufgenommen. Alle Experimente wurden unter Argonatmosphäre und bei Raumtemperatur durchgeführt, die Scanrate betrug 100 mV/s. Es wurden eine HDME-Arbeits Elektrode, eine Ag/AgCl-Referenzelektrode (gesättigte KCl-Lösung) und eine Platingegelektrode verwendet. Typische Konzentrationen der  $\text{Fe}^{3+}$ -Lösungen lagen bei  $c = 1$  mM. Die Ligandlösungen wiesen Werte von  $c = 10$  mM auf. Der pH-Wert wurde unter Verwendung von 1,0 M NaOH und 2,0 M  $\text{HClO}_4$  eingestellt. Die Potentiale wurden auf eine Ag/AgCl-Elektrode (ges. KCl) bezogen und in NHE durch Addition von 197 mV umgerechnet.

## 4.3 Synthesen

### 4.3.1 Vorstufen

Die Verbindungen **I** – **IX** wurden zuvor nach den zitierten Literaturstellen synthetisiert und charakterisiert.

*2,3-Di-(acetoxy)phenoxyessigsäure (IX),  $\text{C}_{12}\text{H}_{12}\text{O}_7$  (268,2g/mol)*

Zu einer Lösung von 18 g (0,1 mol) 2,3-Dihydroxyphenoxyessigsäure und 20 g (0,2 mol) Acetanhydrid wurden 2 bis 3 Tropfen  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (95 %) gegeben und unter Stickstoffatmosphäre bei RT gerührt. Nach 5 bis 10 Minuten entstand ein weißer Niederschlag, der in 140 ml Diethylether (abs.) gelöst wurde. Die Reaktionsmischung wurde 16 h gerührt und anschließend in Eiswasser hydrolysiert. Nach mehrmaliger Extraktion mit Dichlormethan wurde die organische Phase mit Eiswasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet, filtriert und das LM im Vakuum entfernt. Der Rückstand wurde in Toluol/Aktivkohle umkristallisiert.

Ausbeute: 15,2 g (57 %)

Fp = 122 - 125 °C

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ): 2,26 (s, 6H,  $\text{COCH}_3$ ), 4,70 (s, 2H,  $\text{OCH}_2$ ) 6,85 (d,  $J = 8,3$ , 1H, arom. H), 6,90 (d,  $J = 7,2$ , 1H, arom. H), 7,25 (d,  $J = 8,3$ , 1H, arom. H)

MS (FAB)  $m/z$  269,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$

*2,3-Di-(acetoxy)phenoxyacetylchlorid (X)*,  $C_{12}H_{11}ClO_6$  (286,7 g/mol)

Eine Suspension von **IX** (3,9 g, 14 mmol) und  $PCl_5$  (4,8 g, 23,4 mmol) in 10 ml trockenem  $CCl_4$  wurde bei 50 °C bis zur vollständigen Lösung gerührt. Das LM wurde im Vakuum abdestilliert und der Rückstand in  $CCl_4$  umkristallisiert.

Ausbeute: 3,2 g (71 %)

Fp = 86°C

*N-Benzyloxy-N-methylamin XXV*  $C_8H_{11}NO$  (137,18 g/mol)

4,45 g (0,019 mol) des tert. Butyl-*N*-methyl-*N*-benzyloxycarbamat wurden in 40 ml Dichlormethan gelöst, mit 65 ml TFA versetzt und 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde die Reaktionslösung am Rotationsverdampfer eingengt und in 50 ml Toluol aufgenommen, eingengt und nochmals mit 50 ml Toluol behandelt, eingengt und im Hochvakuum getrocknet. Es resultiert ein gelbliches Öl, welches im Kühlschrank langsam fest wird.

Ausbeute: 2,48 g (95 %)

$^1H$ -NMR( $CDCl_3$ ): 2,56 (s, 3 H), 4,64 (s, 2 H), 6,32 (s, 1 h, NH), 7,30 (s, 5 H)

*N-Methyl-N-benzyloxy-glutaramid XXVI*  $C_{13}H_{17}NO_4$  (251,28 g/mol)

Eine Lösung von 2,48 g (0,018 mol) *N*-Benzyloxy-*N*-methylamin und 2,05 g (0,018 mol) Glutarsäureanhydrid in 140 ml Dichlormethan wird bei RT mit 2,9 ml TEA versetzt und ca. 8 h bei RT gerührt. Nachdem durch DC-Kontrolle (Chloroform-Methanol 4:1) kein Edukt mehr detektiert werden konnte, wurde die Lösung mit 1N HCl angesäuert. Das  $CH_2Cl_2$  wurde abdestilliert und der Rückstand in Essigester aufgenommen. Die organische Phase wurde zweimal mit ca. 30 ml  $H_2O$  gewaschen und dann über  $Na_2SO_4$  getrocknet, filtriert und abdestilliert. Es entsteht ein farbloses Öl.

Ausbeute: 4,0 g (88 %)

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ ): 1,98 - 1,70 (q, 2H), 2,50 - 2,24 (t, 4H), 3,16 (s, 3H), 4,78 (s, 2H), 7,34 (s, 5H)

*N-Methyl-N-benzyloxy-succinamid XXVII*  $C_{12}H_{15}NO_4$  (223,25 g/mol)

Die Synthese und Aufarbeitung erfolgte analog von **XXVI**. Eine Lösung von 2,8 g (0,020 mol) *N*-Benzyloxy-*N*-methylamin und 2,0 g (0,020 mol) Bernsteinsäureanhydrid in 150 ml Dichlormethan wird bei RT mit 3,2 ml TEA versetzt und ca. 8 h bei RT gerührt. Es entsteht ein farbloses Öl.

Ausbeute: 3,8 g (85 %)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,98-1,70 (q, 2H), 2,50- 2,24 (t, 2H), 3,16 (s, 3H), 4,78 (s, 2H), 7,34 (s, 5H)

### 4.3.2 Siderophorsynthesen

*Methyl-4,6-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-glucopyranosid (1)*,  $\text{C}_{10}\text{H}_{18}\text{O}_6$  (234,3 g/mol)

Einer Lösung von Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (5,0 g, 25,8 mmol) in 50 ml wasserfreiem DMF wurden 3,5 ml Dimethoxypropan (28,4 mmol, 1,1 eq / Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid) und 100 mg p-Toluolsulfonsäure hinzugefügt. Die Reaktionslösung wurde bei 20 °C für 3 h gerührt und anschließend mit TEA neutralisiert. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum verdampft und der resultierende gelbe Sirup mit Chloroform/Wasser extrahiert. Die organische Phase wurde mit Wasser gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und im Vakuum eingeengt. Nach Reinigung des Rückstandes über Kieselgel-Säulenchromatographie (15:1 Chloroform-Methanol) erhielt man Methyl-4,6-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-glucopyranosid als weißes Pulver.

Ausbeute: 4,8 g (80 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +116,7$  ( $c = 9,8$ , Methanol),

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,2 (s, 3H,  $\text{CCH}_3$ ), 1,3 (s, 3H,  $\text{CCH}_3$ ), 3,2 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 3,3 (d,  $J = 9,3$ , 1H), 3,35 (m, 1H), 3,4 (dd,  $J = 5,1, 9,6$ , 1H), 3,5 (d,  $J = 8,4$ , 1H), 3,55 (d,  $J = 8,7$ , 1H), 3,6 (dd,  $J = 5,1, 10,3$ , 1H), 4,53 (d,  $J = 3,9$ , 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 19,49 ( $\text{CH}_3$ ), 29,45( $\text{CCH}_3$ ), 55,8 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 62,71, 63,65, 72,50, 73,42, 73,88, 100,12, 100,16 (C-1/C-6 und  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ )

*Methyl-2,3-bis-O-[2,3-di-(acetoxy)benzoyl]-4,6-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-glucopyranosid (2)*,  $\text{C}_{32}\text{H}_{34}\text{O}_{16}$  (674,6 g/mol)

Zu einer Lösung von 1,2 g (5 mmol) Methyl-4,6-O-isopropyliden- $\alpha$ -D-glucopyranosid **1** in 50 ml THF wurden 2 ml (15 mmol) TEA und 60 mg DMAP unter Rühren und einer Stickstoffatmosphäre hinzugefügt. Nach dem Herunterkühlen der Lösung auf -20 °C wurde eine Lösung von 3,9 g (15 mmol) 2,3-Di(acetoxy)benzoylchlorid in wasserfreiem THF tropfenweise zugegeben. Es wurde 1 h bei -15 °C und 3 h bei RT weitergerührt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum eingeengt und das Produktgemisch in Essigester aufgenommen. Anschließend wurde nacheinander mit 1 M HCl, gesättigter  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung, ges. NaCl-Lsg. und  $\text{H}_2\text{O}$  gewaschen, über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und wiederum im Vakuum eingeengt. Der resultierende weiße Schaum wurde über HPLC gereinigt und aus Diethylether/PE ausgefällt.



Ausbeute: 2,16 g (64 %)

Fp = 93 - 95 °C

$[\alpha]_D^{20} = +52,4$  ( $c = 8,9$ , Methanol)

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,32 (s, 3H,  $\text{CCH}_3$ ), 1,41 (s, 3H,  $\text{CCH}_3$ ), 2,19 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 2,20 (s, 6H,  $\text{COCH}_3$ ), 2,23 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 3,32 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 3,7-3,85 (m, 3H, H-6, H-5), 3,85 (t,  $J = 3,6$ , 1H, H-4), 4,96 (d,  $J = 3,6$ , 1H, H-1), 5,03 (dd,  $J = 10, 3,6$ , 1H, H-2), 5,67 (dd,  $J = 1,9, 8,4$ , 1H, H-3), 7,15 - 7,29 (m, 4H, arom. H), 7,66 (dd,  $J = 1,8, 7,9$ , 1H, arom. H), 7,72 (dd,  $J = 1,8, 7,9$ , 1H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 18,91 ( $\text{CCH}_3$ ), 20,41, 20,48, 20,51 (2x) ( $\text{CO-CH}_3$ ), 28,89 ( $\text{CCH}_3$ ), 55,47 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 62,36, 63,48, 69,89, 72,25, 72,36, 97,64, 99,94 (C-1/C-6 und  $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ ), 123,78, 124,73, 125,98, 126,22, 127,73, 128,19, 128,48, 129,38, 142,39, 142,84, 143,39, 143,47 (arom. C), 162,73, 163,21 ( $-\text{CO}-$ ), 167,95, 168,04, 168,12, 168,20 ( $\text{CO-CH}_3$ )

MS (ESI)  $m/z$  692,1  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , 697,2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3-bis-O-[2,3-di-(acetoxy)benzoyl]- $\alpha$ -D-glucopyranosid (3)*,  $\text{C}_{29}\text{H}_{30}\text{O}_{16}$

(634,6 g/mol)

Zu einer Lösung von **2** (1 g, 1,5 mmol) in 20 ml  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  wurden 0,5 ml Essigsäure (98 %) getropft. Die Reaktionsmischung wurde bei RT ca. 1 h gerührt, bis kein Edukt mehr im Dünnschichtchromatogramm (3:1:0,5 Chloroform-Ethylacetat-Essigsäure) zu erkennen war. Nach mehrmaliger Extraktion mit ges. NaCl-Lsg und  $\text{H}_2\text{O}$  wurde die organische Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das LM im Vakuum verdampft. Das Produkt wurde in PE/Ether ausgefällt und ergab einen weißen Feststoff.

Ausbeute: 860 mg (91 %)

Fp = 85 - 87 °C

$[\alpha]_D^{20} = +62,7$  ( $c = 6,5$ , Methanol)

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 2,28 (s, 6H,  $\text{COCH}_3$ ), 2,30 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 2,35 (s, 3H,  $\text{COCH}_3$ ), 3,43 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 3,8-3,9 (m, 4H, 2H-6, H-5, H-4), 5,03 (d,  $J = 3,6$ , 1H, H-1), 5,13 (dd,  $J = 3,6, 10,2$ , 1H, H-3), 5,70 (dd,  $J = 1,8, 10,2$ , 1H, H-3), 7,20-7,37 (m, 4H, arom. H), 7,67 (dd,  $J = 1,6, 7,8$ , 1H, arom. H), 7,85 (dd,  $J = 1,71, 7,8$ , 1H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 20,50 (3x  $\text{COCH}_3$ ), 20,70 (3x  $\text{COCH}_3$ ), 55,45 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 62,06 (C-6), 69,75 (C-4), 71,11 (C-2), 71,36 (C-5), 74,03 (C-3), 96,98 (C-1), 123,79, 124,85, 126,25, 127,80, 128,31, 129,24, 142,13, 142,92, 143,15, 143,50 (arom. C), 163,25, 164,49 ( $-\text{CO}-$ ), 168,08 (2C), 168,24, 168,82 ( $\text{CO-CH}_3$ )

MS (ESI)  $m/z$  652,3  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , 657,2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-6-O-trityl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (6), C<sub>26</sub>H<sub>28</sub>O<sub>6</sub> (436,5 g/mol)*

Zu einer Lösung von 19,4 g (0,1 mol) Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid in 200 ml DMF (abs.) wurden 30,7 g (0,11 mol) Triphenylmethylchlorid, 23 ml Triethylamin (1,5 eq) und 0,8 g (5 mmol) DMAP unter Stickstoffatmosphäre gegeben. Die Reaktionsmischung wurde über Nacht bei RT gerührt und anschließend in Eiswasser hydrolysiert und mit Chloroform extrahiert. Die organische Phase wurde mit ges. NaCl-Lsg. und H<sub>2</sub>O gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum verdampft. Die Reinigung des Rückstandes erfolgte durch Kieselgel-Säulenchromatographie (15:1:0,01 Chloroform-Methanol-Triethylamin). Die Umkristallisation erfolgte aus Ethanol.

Ausbeute: 34,5 g (80 %)

Fp = 150 °C

$[\alpha]_D^{20} = +63,7^\circ$  ( $c = 7,5$ , Methanol)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 3,34 (m, 2H, H6), 3,43 (s, 3H,  $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 3,48 (m, 1H), 3,65-3,75 (m, 3H), 4,76 (d, J = 3,7, H-1), 7,23-7,33 (m, 9H, arom. H), 7,45-7,48 (m, 6H, arom. H)

<sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 55,08 ( $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 63,92 (C-6), 70,19, 71,48, 72,10, 74,51 (C-2/C-5), 86,84 (CPh<sub>3</sub>), 99,13 (C-1)

*Methyl-2,3,4-tri-O-(2-cyanoethyl)-6-O-trityl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (7), C<sub>35</sub>H<sub>37</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> (595,7 g/mol)*

Zu einer Lösung von 6,6 g (0,015 mol) **4** in 10 %-iger wässriger KOH-Lsg (50 ml) wurden 8,7 ml (3 eq/OH) Acrylnitril gegeben. Die Reaktionsmischung wurde für 2 h bei 40 °C einem Ultraschallbad ausgesetzt, anschließend abgekühlt und mit Chloroform extrahiert. Die organische Phase wurde mit 1 N HCl und H<sub>2</sub>O gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und im Vakuum verdampft. Das Rohprodukt wurde in Ethanol auskristallisiert und anschließend über eine Kieselgelsäule chromatographisch gereinigt (5:1 Chloroform-Essigsäureethylester).

Ausbeute: 5,2 g (58 %)

Fp = 146 °C

$[\alpha]_D^{20} = +71,0$  ( $c = 7,8$ , Methanol)

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 2,12-2,22 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-CN), 2,60 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>-CN), 3,10 (dd, J = 7,3, 3,1, 1H), 3,32 (dt, J = 8,9, 5,9, 3,2, 1H), 3,44 (s, 3H,  $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 3,46 - 3,65 (m, 4H), 3,7 (t, J = 6,3, 2H, O-CH<sub>2</sub>), 3,75 (m, 1H), 3,91 (t, J = 6,1, 2H, O-CH<sub>2</sub>-), 3,93 (m, 1H), 4,95 (d, 3,4, 1H, H-1), 7,22 - 7,49 (m, 15H, arom. H)

<sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 18,92, 19,31, 19,39 (CH<sub>2</sub>-CN), 55,1 ( $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 61,49 (C-6), 65,93 (C-4), 66,77, 67,82, 69,83 (O-CH<sub>2</sub>-), 77,87 (C-2), 80,96 (C-5), 81,0 (C-3), 86,39

(CPh<sub>3</sub>), 97,11 (C-1), 117,67, 117,72, 118,67 (CH<sub>2</sub>-C<sub>N</sub>), 127,14, 127,85, 128,65, 143,55 (arom. C)

MS (ESI) m/z 618,4 [M+Na]<sup>+</sup>

*Methyl-2,3,4-tri-O-(3-aminopropyl)-6-O-trityl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (8)*, C<sub>35</sub>H<sub>49</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub> (607,8 g/mol)

Herstellung des Katalysators Co<sub>2</sub>B: Zu einer Lösung von 4,5 g (0,034 mol) CoCl<sub>2</sub> in 100 ml absolutem Methanol wurden unter Stickstoffatmosphäre bei 0 °C 1,3 g (0,034 mol) NaBH<sub>4</sub> hinzugefügt. Innerhalb 0,5 h fiel ein schwarzer Feststoff aus. Zu dieser Mischung wurde *in situ* eine Lösung von 2,0 g (3,4 mmol) **6** in 10 ml THF (abs.) gegeben. Weitere 4 g (0,1 mol) NaBH<sub>4</sub> wurden portionsweise hinzugefügt. Die Reaktionslösung wurde etwa 2 h bei RT gerührt, bis kein Nitril mehr im Dünnschichtchromatogramm (5:1 Chloroform-Ethylacetat) detektiert werden konnte. Mit 2N HCl wurde auf pH 2 - 3 eingestellt. Durch sehr starkes Rühren wurde der Katalysator zerstört. Es wurde so lange weitergerührt, bis eine klare rote Lösung entstand. Nun wurde die Lösung mit wässrigem NH<sub>3</sub> alkalisch gemacht und mit Chloroform extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das LM verdampft. Der resultierende weiße Schaum wurde ohne weitere Reinigung für die nächsten Reaktionen eingesetzt.

Ausbeute: 1,9 g (92 %)

$[\alpha]_D^{20} = +59,6$  (*c* = 5,3, Methanol)

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1,76 - 1,88 (m, 6H, -CH<sub>2</sub>-), 2,45 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>), 2,82 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>), 3,12 (dd, *J* = 4,4, 9,6, 1H), 3,29-3,38 (m, 3H), 3,47 (s, 3H,  $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 3,66 (m, 1H), 3,74 (m, 6H, O-CH<sub>3</sub>), 3,82 (m, 1H), 4,91 (d, *J* = 3,5, 1H), 7,21-7,33 (m, 9H, arom. H), 7,44-7,51 (m, 6H, arom. H)

<sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 33,84, 34,06, 34,43 (-CH<sub>2</sub>-), 39,41, 39,42, 39,56 (C<sub>CH</sub><sub>2</sub>-NH<sub>2</sub>), 54,84 ( $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 62,52 (C-6), 69,13 (C-4), 70,30, 70,88, 71,47 (O-CH<sub>2</sub>-), 78,50 (C-2), 80,72 (C-5), 81,61 (C-3), 86,26 (CPh<sub>3</sub>), 97,52 (C-1), 127,13, 127,93, 128,77, 143,96 (arom. C)

MS (ESI) m/z 608,3 [M+H]<sup>+</sup>, 646,1 [M+K]<sup>+</sup>

*Methyl-2,3,4-tris-O-{N-[2,3-di-(acetoxy)benzoyl]-3-aminopropyl}-6-O-trityl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (9 a)*, C<sub>68</sub>H<sub>73</sub>N<sub>3</sub>O<sub>21</sub> (1268,4 g/mol)

Zu einer Lösung von **8** (2 g, 3,2 mmol), TEA (5,4 ml, 39,2 mmol) und DMAP (1,56 g, 9,6 mmol) in wasserfreiem THF (50 ml) wurde eine Lösung von 2,3-Diacetoxybenzoylchlorid (4,8 g, 18,8 mmol) in 50 ml THF (abs.) bei -15 °C und unter Stickstoffatmosphäre getropft.

Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei 0 °C gerührt und nochmals 4 h bei RT. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum verdampft und der Rückstand mit Essigester aufgenommen. Es wurde hintereinander mit 1 M HCl, ges. NaHCO<sub>3</sub>-Lösung, ges. NaCl-Lösung und H<sub>2</sub>O gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das LM entfernt. Der resultierende weiße Schaum wurde über HPLC gereinigt.

DC (3:1:0,5 Chloroform-Essigester-Essigsäure): R<sub>f</sub> = 0,49

Ausbeute: 1,8 g (49 %)

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 25,1 (c = 4,6, Methanol)

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1,46 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-), 1,77 (m, J = 6,3, 6,1, 4H, -CH<sub>2</sub>-), 2,23 - 2,28 (m, 18H, CO-CH<sub>3</sub>), 3,12 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-NH), 3,25 - 3,77 (m, 15 H, -CH<sub>2</sub>-NH, -O-CH<sub>2</sub>-, -CH), 4,11 (m, 1H, -CH), 4,91 (d, J = 3,1, 1H, -CH), 6,46 (m, 1H, -NH-CO-), 6,83 (m, 1H, -NH-CO-), 6,89 (m, 1H, -NH-CO-), 7,16-7,48 (m, 24 H, arom. H)

<sup>13</sup>C-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 20,44, 20,49 (CO-CH<sub>3</sub>), 29,54, 29,62, 29,86 (CH<sub>2</sub>-) 37,86, 37,95 (CH<sub>2</sub>-NH) 54,64 (α-OCH<sub>3</sub>) 62,25 (C-6), 69,07 (C-4), 70,12, 71,06, 71,74 (O-CH<sub>2</sub>), 78,50 (C-2), 80,46 (C-5), 81,53 (C-3), 86,31 (CPh<sub>3</sub>), 97,03 (C-1), 125,44, 126,00, 126,23, 126,35, 127,01, 127,76 127,84, 127,88, 128,68, 130,57, 140,14, 140,34, 142,95, 143,03, 143,78 (arom. C), 164,81, 165,03, 165,20 (CO-NH), 167,90, 167,99, 168,1, 168,15, 168,19 (CO-CH<sub>3</sub>)

MS (ESI) m/z 1290,3 [M+Na]<sup>+</sup>

*Methyl-2,3,4-tris-O-[N-(2,3-dihydroxybenzoyl)-3-aminopropyl]-6-O-trityl-α-D-glucopyranosid (9 b)*, C<sub>56</sub>H<sub>61</sub>N<sub>3</sub>O<sub>15</sub> (1016,1 g/mol)

Zu einer mit Stickstoff gespülten Lösung von Natriumhydroxid (192 mg) in Wasser (5ml) wurde **9 a** (1 g, 0,8 mmol) hinzugegeben. Es wurde 1 h bei RT gerührt und anschließend mit 1 M HCl neutralisiert, wobei ein grauer Niederschlag ausfiel. Dieser wurde abfiltriert und mit Wasser gewaschen. Anschließend wurde er in Essigester gelöst und mit ges. NaCl-Lösung und H<sub>2</sub>O gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das LM entfernt. Der Rückstand wurde über die HPLC gereinigt und anschließend lyophilisiert.

Ausbeute: 120 mg (15 %)

<sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 1,54-1,66 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-), 1,76-1,9 (m, 4H, -CH<sub>2</sub>-), 2,96 - 3,51 (m, 2H), 3,2 - 3,87 (m, 16H), 3,41 (s, 3H, α-OCH<sub>3</sub>), 4,95 (d, J = 3,0, 1H, H-1), 5,7 - 5,9 (br, 3H, OH), 6,57-6,69 (m, 3H, benzyl. H), 6,73-6,78 (m, 1H, NH), 6,87-6,94 (m, 1H, NH), 6,95 - 7,02 (m, 3H, benzyl. H), 7,18 - 7,2 (m, 1H, NH), 7,21 - 7,3 (m, 12H, trityl und benzyl. H), 7,4 - 7,46 (m, 6H, trityl H), 12,6 - 12,9 (br, 3H, OH)

$^{13}\text{C}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 29,03, 29,19, 29,53 ( $-\text{CH}_2-$ ), 38,11, 38,41, 38,76 ( $-\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 54,87 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 62,05 (C-6), 70,35 (C-4), 70,75, 72,26, 72,45 (O- $\text{CH}_2-$ ), 78,67 (C-2), 80,82 (C-5), 82,12 (C-3), 86,45 ( $\text{CPh}_3$ ), 97,12 (C-1), 113,9(2C), 114,101, 115,61, 115,76, 116,13, 117,92, 118,07, 118,42, 118,47, 118,68 (arom. C), 127,13, 127,83, 128,68, 143,64 (trityl C), 145,86 (2C), 145,98, 149,1 (2C), 149,22 (arom. C-OH), 169,54, 169,91 (2C) (CO-NH)  
MS (ESI) m/z 1014,0  $[\text{M-H}]^-$

*Methyl-2,3,4-tris-O-{N-[3,4-di-(methoxycarbonyloxy)benzoyl]-3-aminopropyl}-6-O-trityl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (9 c)*  $\text{C}_{68}\text{H}_{73}\text{N}_3\text{O}_{27}$  (1386,7 g/mol)

Zu einer Lösung von **8** (660 mg, 1,1 mmol), TEA (3 ml, 21 mmol) und DMAP (550 mg, 3,3 mmol) in 50 ml THF (abs.) wurde eine Lösung von 3,4-Di(methoxycarbonyloxy)-benzoylchlorid (1,3 g, 4,5 mmol) in 20 ml THF (abs.) bei  $-15^\circ\text{C}$  und unter Stickstoffatmosphäre getropft. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei  $0^\circ\text{C}$  und 5 h bei RT gerührt.

Die Aufarbeitung erfolgte analog **9a** und ergab einen weißen Schaum.

DC (3:1:0,5 Chloroform-Essigester-Essigsäure):  $R_f = 0,41$

Ausbeute: 1,2 g (32 %)

$[\alpha]_D^{20} = +25,1$  ( $c = 7,5$ , Methanol)

$^1\text{H}$ -NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,70 - 1,99 (m, 6H,  $-\text{CH}_2$ ), 3,13 (m, 2H), 3,38 - 3,91 (m, 15H) 3,40 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 3,83 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,85 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,86 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,87 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,89 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,90 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,94 (m, 1H), 4,95 (d,  $J = 3,4$ , 1H, H-1) 6,85 (m, 1H, NH), 6,96 (m, 1H,  $-\text{NH}$ ), 7,2 (m, 1H, NH), 7,26 - 7,30 (m, 15H, trityl H und benzyl. H), 7,45 - 7,49 (m, 6H, trityl H), 7,60 - 7,84 (m, 3H, benzyl. H)

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): 29,4 (2C), 29,68 ( $-\text{CH}_2-$ ), 38,03, 38,19, 39,04 ( $-\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 54,67 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 55,87 ( $\text{OCH}_3$ ), 62,33 (C-6), 70,37 (C-4), 71,25, 71,4, 71,58 (O- $\text{CH}_2-$ ), 78,57 (C-2), 80,76 (C-5), 81,32 (C-3), 86,37 ( $\text{CPh}_3$ ) 97,12 (C-1), 122,17, 122,23, 122,26, 122,9, 122,96, 123,05, 125,33, 125,59, 125,77, 127,04, 127,78, 128,69, 133,53 (3C), 142,23 (3C), 143,77, 144,58 (3C), (arom. C), 152,79, 153,05, 153,11 (CO-NH), 165,14, 165,18, 165,21, 165,52, 165,67, 165,74 ( $\text{CO-OCH}_3$ )

MS (ESI) m/z 1386,7  $[\text{M+Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[N-[2,3-di-(acetoxy)phenoxyacetyl]-3-aminopropyl]-6-O-trityl- $\alpha$ -D-glucofuranosid (9 d)*,  $C_{71}H_{79}N_3O_{24}$  (1358,4 g/mol)

Einer Lösung von **8** (1,7 g, 2,8 mmol), TEA (3 ml, 21 mmol) und DMAP (1,36 g, 8,4 mmol) in 50 ml THF (abs.) wurde bei  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$  und unter Stickstoffatmosphäre eine Lösung von **X** (3,2 g, 10,8 mmol) in THF (abs.) hinzugefügt. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  und 4 h bei RT weitergerührt. Die Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben. Der entstandene weiße Schaum wurde anschließend über die HPLC gereinigt.

DC (3:1:0,5 Chloroform-Essigester-Essigsäure):  $R_f = 0,19$

Ausbeute: 0,94 g (25 %)

$[\alpha]_D^{20} = +28,1$  ( $c = 6,2$ , Methanol)

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,64-1,75 (m 6H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2,24 - 2,33 (m, 18 H,  $\text{CO-CH}_3$ ), 3,0 - 3,61 (m, 18H), 3,38 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 4,51 (s, 2H,  $\text{CO-CH}_2\text{-O}$ ), 4,53 (s, 2H,  $\text{CO-CH}_2\text{-O}$ ), 4,59 (s, 2H,  $\text{CO-CH}_2\text{-O}$ ), 4,79 (d,  $J = 3,4$ , 1H, H-1), 6,75 - 6,85 (m, 6H, benzyl. H), 7,0 - 7,1 (m, 3H, NH), 7,18 - 7,30 (m, 12H, trityl und benzyl. H), 7,45 - 7,48 (m, 6H, trityl H)

$^{13}\text{C-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 20,45 ( $\text{CO-}\underline{\text{C}}\text{H}_3$ ), 29,62, 29,63, 29,91 ( $-\text{CH}_2-$ ), 36,30, 36,82, 36,96 ( $\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 54,7 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 62,33 (C-6), 67,38, 67,56, 67,62 ( $\text{CO-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-O}$ ), 68,32 ( $\text{O-CH}_2$ ), 69,99 (C-4), 70,4, 70,97 ( $\text{O-CH}_2-$ ), 78,31 (C-2), 80,56 (C-5), 81,52 (C-3), 86,2 ( $\underline{\text{C}}\text{Ph}_3$ ), 97,33 (C-1), 110,03, 110,38 (2C), 116,29, 116,32, 116,32, 126,12, 126,46, 126,51, 126,51, 126,94, 127,17, 127,21, 127,71, 127,85, 127,89, 128,67, 131,89, 131,95, 132,04, 143,52, 143,55, 143,83, 143,89 (arom. C), 149,99, 150,04, 150,12, ( $\text{CO-NH}$ ), 167,55, 167,80, 167,85, 168,04, 168,12, 168,25 ( $-\underline{\text{C}}\text{O-CH}_3$ )

MS (ESI)  $m/z$  1375  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , 1380  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[N-(8-methoxycarbonyloxy-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-1,3-benzoxazin-3-yl-acetyl)-3-aminopropyl]-6-O-trityl- $\alpha$ -D-glucofuranosid (9 e)*,  $C_{71}H_{70}N_6O_{24}$  (1439,4 g/mol)

In einer Lösung von **8** (1,88 g, 3,1 mmol), TEA (5,5 ml, 39,4 mmol) und DMAP (534 mg, 3,3 mmol) in 70 ml THF (abs.) wurde bei  $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$  und unter Stickstoffatmosphäre eine Lösung von Methoxycarbonyloxy-3,4-dihydro-2H-1,3-benzoxazin-3-yl-acetylchlorid (3,7g, 11,8 mmol) in 20 ml THF (abs.) schnell zugetropft. Die Reaktionsmischung wurde dann 1 h bei  $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  und 3 h bei RT gerührt. Die Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben. Der entstandene gelbe Schaum wurde über die HPLC gereinigt.

Ausbeute: 1,3 g (29 %)

$[\alpha]_D^{20} = +25,1$  ( $c = 7,5$ , Methanol)

$^1\text{H-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 1,45 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 1,83 (m, 4H,  $-\text{CH}_2-$ ), 3,30 - 3,97 (m, 20H), 3,43 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 3,97 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,99 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4,01 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4,5 - 4,65 (m, 3H), 4,95 (d,  $J = 3,3$ , 1H, H-1), 5,1 (m, 1H), 6,25 (m, 1H, NH), 6,54 (m, 1H, NH), 6,71 (m, 1H, NH), 7,23 - 7,33 (m, 12H, trityl. und benzyl. H), 7,47 - 7,53 (m, 9H, trityl. und benzyl. H), 7,86 - 8,03 (m, 3H, benzyl. H)

$^{13}\text{C-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 29,33, 29,47, 29,66 ( $-\text{CH}_2-$ ), 37,49, 37,81, 38,05 ( $-\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 42,94, 44,52, 44,53 ( $-\text{CO}-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-N}$ ), 54,84 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 56,12, 56,15, 56,2 ( $\text{OCH}_3$ ), 62,33 (C-6), 69,48 ( $\text{O}-\text{CH}_2-$ ), 70,29 (C-4), 70,91, 71,48 ( $\text{O}-\text{CH}_2-$ ), 77,19 (C-2), 78,51 (C-5), 80,44 (C-3), 86,34 ( $\underline{\text{C}}\text{Ph}_3$ ), 97,17 (C-1), 115,18, 115,49, 115,52, 125,21, 125,28, 125,66, 127,0, 127,76, 128,71, 129,21, 129,51, 129,63, 136,89, 137,85, 138,0, 143,81, 144,39, 144,65, 144,73 (arom. C), 146,59, 146,87, 146,96 ( $\text{CO-NH}$ ), 159,27, 159,65, 159,71 ( $\text{N}-\underline{\text{C}}\text{O-O}$ ), 164,72, 165,46, 165,57 ( $\underline{\text{C}}\text{O-CH}_3$ )

MS (ESI)  $m/z$  1461,7 ( $[\text{M}+\text{Na}]^+$ )

*Methyl-2,3,4-tris-O-[N-[N-(2,3-dihydroxybenzoyl)glycyl]-3-aminopropyl]-6-O-trityl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (9 f),  $\text{C}_{62}\text{H}_{70}\text{N}_6\text{O}_{18}$  (1187,3 g/mol)*

In einer mit  $\text{N}_2$  gespülten Lösung von 192 mg NaOH in 5 ml  $\text{H}_2\text{O}$  wurde **9 e** (400 mg, 0,3 mmol) hinzugefügt. Es wurde 1 h bei RT gerührt und anschließend mit 1 M HCl neutralisiert. Dabei fiel ein grauer Niederschlag aus. Dieser wurde abfiltriert, mit Wasser gewaschen und in Essigester gelöst. Die Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben. Das Produkt wurde nach der Reinigung über die HPLC lyophilisiert.

DC: (3:1:0,5 Chloroform-Essigsäureethylester-Essigsäure):  $R_f = 0,12$

Ausbeute: 200 mg (56 %)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,54-1,74 (m, 6H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2,9 - 3,9 (m, 24 H), 3,33 (s, 2H,  $\text{CO}-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-NH}$ ), 3,34 (s, 2H,  $\text{CO}-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-NH}$ ), 3,36 (s, 2H,  $\text{CO}-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-NH}$ ), 3,39 (s,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 4,8 (d,  $J = 3,4$ , H-1), 6,51 - 6,90 (m, 6H, NH), 6,97 - 7,23 (m, 18H, trityl und benzyl. H), 7,33 - 7,43 (m, 6H, trityl H)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 29,96, 30,15, 30,32 ( $-\text{CH}_2-$ ), 37,23, 37,74, 39,31 ( $-\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 43,58, 43,75, 43,62 ( $\text{CO}-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-NH}$ ), 55,32 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 62,98 (C-6), 70,19 ( $\text{O}-\text{CH}_2-$ ), 70,69 (C-4), 71,07, 71,23 ( $\text{O}-\text{CH}_2-$ ), 76,70 (C-2), 77,68 (C-5), 78,19 (C-3), 86,65 ( $\underline{\text{C}}\text{Ph}_3$ ), 97,38 (C-1), 117,5, 119,02, 119,09, 119,16, 119,32, 119,56, 127,13, 127,87, 128,74, 128,82, 129,21, 129,52, 143,21, 146,13, 146,19, 146,25, 147,35, 149,25, 149,52 (arom. C), 165,77, 168,33, 168,87 ( $\text{CH}_2\text{-}\underline{\text{C}}\text{O-NH}$ ), 170,84, 170,92, 172,84 ( $\text{CO-NH}$ )

MS (ESI)  $m/z$  592,8  $[\text{M}-2\text{H}]^{2-}$ , 1185,7  $[\text{M}-\text{H}]^-$ , 1209,7  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-{N-[3-(8-methoxycarbonyloxy-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-1,3-benzoxazin-3-yl)-propionyl]-3-aminopropyl}-6-O-trityl- $\alpha$ -D-glucopyranosid* (**9 g**),  $C_{74}H_{76}N_6O_{27}$ , (1481,45 g/mol)

3-(8-Methoxycarbonyloxy-3,4-dihydro-2H-1,3-benzoxazin-3-yl)propionylchlorid (2,9 g, 9,32 mmol) wurde in absolutem Tetrahydrofuran gelöst und bei einer Temperatur von  $-15^{\circ}\text{C}$  unter Stickstoffatmosphäre zu einer Lösung von **8** (1,6 g, 2,9 mmol), TEA (2,5 ml) und DMAP (500 mg) in absolutem Tetrahydrofuran (70 ml) gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei  $0^{\circ}\text{C}$  und 3 h bei Raumtemperatur gerührt. Die Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben. Das Rohprodukt wurde über eine HPLC-Chromatographie gereinigt. Man erhält einen gelben Schaum.

Ausbeute: 1,2 g (27 %)

$[\alpha]_D^{20} = +20,2$  (c = 7,5, Methanol)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,45 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 1,83 (m, 4H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2,5 - 2,6 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ) 3,30-3,97 (m, 20H), 3,43 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 3,81 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,84 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,90 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 4,5 - 4,65 (m, 3H), 4,95 (d, J = 3,3, 1H, H-1), 5,2 (m, 1H), 6,25 (m, 1H, NH), 6,54 (m, 1H, NH), 6,71 (m, 1H, NH), 7,23 - 7,33 (m, 12H, arom. H), 7,47 - 7,53 (m, 9H, arom. H), 7,86 - 8,03 (m, 3H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 29,33, 29,47, 29,66 ( $-\text{CH}_2-$ ), 33,55 (3C,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 37,81, 38,05 ( $-\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 54,84 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 56,12, 56,15, 56,20 ( $\text{OCH}_3$ ), 62,33 (C-6), 69,48 ( $\text{O-CH}_2-$ ), 70,29 (C-4), 70,91, 71,48 ( $\text{O-CH}_2-$ ), 77,19 (C-2), 78,51 (C-5), 80,44 (C-3), 86,34 ( $\text{CPh}_3$ ), 97,12 (C-1), 115,18, 115,49, 115,52 125,21, 125,28, 125,66, 127,0, 127,76, 128,71, 129,21, 129,51, 129,63, 136,89, 137,85, 138,0, 143,81, 144,39, 144,65, 144,73 (arom. C), 146,59, 146,87, 146,96 ( $\text{CO-NH}$ ), 159,27, 159,65, 159,71 ( $\text{N-CO-O}$ ), 164,72, 165,46, 165,57, 169,77 ( $\text{CO}$ )

MS (ESI) m/z 1481,5  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 1503,3  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-{N-[2,3-di(acetoxy)benzoyl]-3-aminopropyl}- $\alpha$ -D-glucopyranosid* (**10 a**),  $C_{49}H_{59}N_3O_{21}$  (1026,0 g/mol)

Zu einer Lösung von **9 a** (250 mg, 0,2 mmol) in Dichlormethan (50 ml) wurde eine Lösung aus  $\text{BF}_3$ -Etherat (30 mg, 0,2 mmol) in Methanol (0,08 ml, 0,2 mmol) bei RT zugegeben. Die Reaktion wurde nach 15 min, nachdem kein Edukt mehr im Dünnschichtchromatogramm (3:1:0,5 Chloroform-Essigsäureethylester-Essigsäure) zu sehen war, mit der Zugabe von einigen Tropfen Wasser beendet. Nach dreimaliger Extraktion mit  $\text{H}_2\text{O}$  wurde die organische Phase über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  getrocknet und das LM im Vakuum entfernt. Das Produkt wurde als weißer Feststoff aus Petrolether/ Diethylether gefällt.



Ausbeute: 148 mg (78 %)

$[\alpha]_D^{20} = +31,2$  ( $c = 2,1$ , Methanol)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,70 - 1,78 (m, 6H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2,18-2,22 (m, 18H,  $\text{CO-CH}_3$ ), 3,10 - 3,80 (m, 18H), 3,19 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 4,72 (d,  $J = 3,5$ , 1H, H-1), 6,63 (t,  $J = 5,3$ , 1H,  $\text{CO-NH}$ ), 6,77 - 6,83 (m, 2H,  $\text{CO-NH}$ ), 7,10 - 7,28 (m, 6H, benzyl. H), 7,36 - 7,42 (m, 3H, benzyl. H)

$^{13}\text{C-NMR}$  (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ): 21,58 ( $\text{CO-CH}_3$ ), 30,57, 30,92, 31,16 ( $-\text{CH}_2-$ ), 38,53, 39,02, 39,24 ( $-\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 55,92 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 62,55 (C-6), 70,13, 71,70, (O- $\text{CH}_2-$ ), 71,78 (C-4), 72,80 (O- $\text{CH}_2-$ ), 78,74 (C-2), 81,58 (C-5), 82,60 (C-3), 98,28 (C-1), 126,57, 126,62, 127,12, 127,25, 127,35, 127,54, 131,64, 131,67, 131,77, 140,87, 141,22, 141,42, 144,05, 144,13, 144,28 (arom. C), 166,12, 166,30, 166,36 ( $\text{CO-NH}$ ), 169,08, 169,12, 169,16, 169,21, 169,27, 169,43 ( $\text{CO-CH}_3$ )

MS (ESI)  $m/z$  1026,8  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 1048,5  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-{N-[2,3-dihydroxybenzoyl]-3-aminopropyl}- $\alpha$ -D-glucopyranosid* (**10 b**),  
 $\text{C}_{37}\text{H}_{47}\text{N}_3\text{O}_{15}$  (773,8 g/mol)

Zu einer mit Stickstoff gespülten wässrigen NaOH-Lösung (230 mg in 5 ml  $\text{H}_2\text{O}$ ) wurden 370 mg (0,36 mmol) **9 b** gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 1 h bei RT gerührt und anschließend mit 1 M HCl neutralisiert. Der gräuliche Niederschlag wurde mit  $\text{H}_2\text{O}$  gewaschen und über die HPLC gereinigt. Das Produkt wurde nach der Lyophilisation erhalten.

Ausbeute: 150 mg (54 %)

$[\alpha]_D^{20} = +38,4$  ( $c = 10,0$ , Methanol)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ): 1,72 - 1,79 (m, 6H,  $-\text{CH}_2-$ ), 3,12 - 3,19 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 3,26 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 3,28 - 3,43 (m, 6H,  $-\text{CH}_2\text{-N}$ ), 3,49 - 3,53 (dd, 1H,  $J = 4,3$ , 12, H-6), 3,53 - 3,61 (m, 4H,  $\text{OCH}_2-$ ), 3,63 - 3,68 (m, 1H, H-6'), 3,73 - 3,78 (m, 2H,  $\text{OCH}_2-$ ), 4,77 (d, 1H,  $J = 3,2$ , H-1), 6,61 - 6,67 (m, 3H, arom. H), 6,81 - 6,90 (m, 3H, arom. H), 7,23 - 7,27 (m, 3H, arom. H), 8,69 (b, 3H, NH), 9,07 (b, 3H, arom. C-OH), 12,76 (br, 3H, arom. C-OH)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{DMSO-}d_6$ ): 29,14, 29,79, 29,89 ( $-\text{CH}_2-$ ), 36,42, 36,50, 36,60 ( $-\text{CH}_2\text{-N}$ ), 54,26 (O- $\text{CH}_3$ ), 60,17 (C-6), 67,99, 69,84, 70,37 (O- $\text{CH}_2-$ ), 71,27 (C-3), 77,51 (C-4), 80,03 (C-2), 81,40 (C-5), 96,94 (C-1), 114,96, 117,07, 117,84, 118,74 (arom. CH), 146,18, 149,61 (arom. C-OH), 169,70 (CO)

MS (ESI)  $m/z$  774,5  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 796,4  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-{N-[3,4-di-(methoxycarbonyloxy)benzoyl]-3-aminopropyl}- $\alpha$ -D-glucopyranosid (10 c), C<sub>49</sub>H<sub>59</sub>N<sub>3</sub>O<sub>27</sub> (1121,9 g/mol)*

Analog der Synthese von **10 a** wurde **9 c** (600 mg, 0,4 mmol) in 30 ml Dichlormethan gelöst und mit 60 mg (0,4 mmol) BF<sub>3</sub>-Etherat in 0,16 ml (0,4 mmol) Methanol versetzt. Die Reaktion war nach ca. 20 min beendet. Die Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben. Das Produkt wurde als weißer Schaum erhalten.

DC (3:1:0,5 Chloroform-Essigsäureethylester-Essigsäure): R<sub>f</sub> = 0,1

Ausbeute: 336 mg (75 %)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 1,74-1,85 (m, 6H, -CH<sub>2</sub>-), 3,35 - 3,97 (m, 18H), 3,32 (s, 3H,  $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 3,9 (s, 18H, 6x OCH<sub>3</sub>), 4,83 (d, J = 3,4, 1H, H-1), 7,0 - 7,07 (m, 2H, NH), 7,1 - 7,17 (m, 1H, NH), 7,22 - 7,34 (m, 6H, benzyl. H), 7,45 - 7,47 (m, 3H, benzyl. H)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 29,33, 29,69, 29,86 (-CH<sub>2</sub>-), 37,55, 38,39, 38,94 (-CH<sub>2</sub>-NH), 54,86 ( $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 55,89 (COOCH<sub>3</sub>), 61,60 (C-6), 70,25, 70,65 (O-CH<sub>2</sub>-), 70,86 (C-4), 71,64 (O-CH<sub>2</sub>-), 77,73 (C-2), 80,77 (C-5), 81,37 (C-3), 97,28 (C-1), 122,15, 122,20, 122,23, 123,02, 123,05, 112,31, 125,51, 125,58, 125,77, 133,47, 133,52, 133,55, 142,20, 142,25, 142,29, 144,52, 144,56, 144,59 (arom. C), 152,79, 153,05, 153,11, 165,18 (2C), 165,54 (2C), 165,67 (2C) (O-CO-CH<sub>3</sub>)

MS (ESI) m/z 1122,2 [M+H]<sup>+</sup>, 1144,7 [M+Na]<sup>+</sup>

*Methyl-2,3,4-tris-O-{N-[2,3-di-(acetoxy)phenoxyacetyl]-aminopropyl}- $\alpha$ -D-glucopyranosid (10 d), C<sub>52</sub>H<sub>65</sub>N<sub>3</sub>O<sub>24</sub> (1116,0 g/mol)*

Einer Lösung von **9 d** (300 mg, 0,22 mmol) in Dichlormethan wurde eine Lösung aus BF<sub>3</sub>-Etherat (33 mg, 0,22 mmol) in Methanol (0,09 ml, 0,22 mmol) hinzugefügt. Die Reaktionsdauer betrug 20 min. Die Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben. **10 d** wurde als weißer Schaum erhalten.

Ausbeute: 201 mg (82 %)

$[\alpha]_D^{20} = +26,2$  (c = 4,3, Methanol)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 1,7 - 1,77 (m, 6H, -CH<sub>2</sub>-), 2,26 - 2,33 (m, 18H, CCH<sub>3</sub>), 3,10 - 3,79 (m, 18H), 3,32 (s, 3H,  $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 4,55 (CO-CH<sub>2</sub>-O), 4,58 (CO-CH<sub>2</sub>-O), 4,58 (CO-CH<sub>2</sub>-O), 4,69 (d, J = 3,4, 1H, H-1), 6,79 - 6,87 (m, 3H, benzyl. H), 6,96 - 7,04 (m, 3H, NH), 7,24 - 7,34 (m, 6H, benzyl. H)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 20,51 (-CH<sub>3</sub>), 29,67, 29,99 (2C) (-CH<sub>2</sub>-), 36,26, 36,34, 37,09 (CH<sub>2</sub>-NH), 54,93 ( $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 61,46 (C-6), 67,53, 67,59, 67,94 (O-CH<sub>2</sub>-CO), 68,33, 68,87 (O-CH<sub>2</sub>-), 70,70 (C-4), 71,13 (O-CH<sub>2</sub>-), 77,47 (C-2), 80,61 (C-5), 81,64 (C-3), 97,58 (C-1), 110,01, 110,14,

110,53, 116,30, 116,33, 116,39, 126,50, 126,58, 126,96, 131,95, 131,99, 132,08, 143,51, 143,53, 143,55 (arom. C), 150,01, 150,11, 150,23 (CO-NH), 167,62, 167,70, 167,85, 168,09, 168,14, 168,22 (CO-CH<sub>3</sub>)

MS (ESI) m/z 1138,8 [M+Na]<sup>+</sup>

*Methyl-2,3,4-tris-O-[N-(8-methoxycarbonyloxy-2,4-dioxo-3,4-dihydro-2H-1,3-benzoxazin-3-yl-acetyl)-3-aminopropyl]- $\alpha$ -D-glucopyranosid (10 e), C<sub>52</sub>H<sub>56</sub>N<sub>6</sub>O<sub>27</sub> (1197,1 g/mol)*

Analog zu **10 a** wurde eine Lösung von **9 e** (300 mg, 0,21 mmol) in Dichlormethan mit BF<sub>3</sub>-Etherat (30 mg, 0,21 mmol) in Methanol (0,09 ml, 0,21 mmol) versetzt. Die Reaktionszeit betrug ca. 20 min. Die Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben.

Ausbeute: 125 mg (50 %)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 1,6 - 1,75 (m, 6H, -CH<sub>2</sub>-), 3,05 - 3,84 (m, 20H), 3,27 (s, 3H,  $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 3,79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4,43 - 4,53 (m, 3H), 4,70 (d, J = 3,2, 1H, H-1), 5,0 (m, 1H), 6,9 - 7,1 (m, 3H, NH), 7,1 - 7,25 (m, 3H, arom. H), 7,3 - 7,5 (m, 3H, benzyl. H), 7,7-7,9 (m, 3H, arom. H)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 29,80, 30,06, 30,22 (-CH<sub>2</sub>-), 37,46, 37,94, 38,37 (-CH<sub>2</sub>-NH), 43,37, 44,90, 44,92 (O-CH<sub>2</sub>-N), 53,85 ( $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 55,42, 56,59, 56,66 (OCH<sub>3</sub>), 61,79 (C-6), 69,33, 70,81 (O-CH<sub>2</sub>-), 71,33 (C-4), 71,82 (O-CH<sub>2</sub>-), 78,09 (C-2), 80,83 (C-5), 81,65 (C-3), 97,79 (C-1), 115,57, 115,83, 115,89, 125,76, 126,06, 126,21, 129,63, 129,93, 130,08, 137,24, 138,20, 138,38, 144,78, 145,09, 145,11 (arom. C), 147,09, 147,34, 147,46, 159,74, 160,12, 160,18, 164,38, 165,13, 165,26, 166,60

MS (ESI) m/z 1219,9 [M+Na]<sup>+</sup>

*Methyl-2,3,4-tris-O-[N-[(2,3-dihydroxybenzoyl)glycyl]-3-aminopropyl]- $\alpha$ -D-glucopyranosid (10 f), C<sub>43</sub>H<sub>56</sub>N<sub>6</sub>O<sub>18</sub>, (944,96 g/mol)*

Analog der Reaktion von **10 a** wurde einer Lösung von **9 f** (330 mg, 0,27 mmol) in 100 ml Dichlormethan eine Lösung von BF<sub>3</sub>-Etherat (39 mg, 0,27 mmol) in Methanol (0,12 ml, 0,21 mmol) hinzugefügt. Die Reaktionszeit betrug ca. 25 min. Die Aufarbeitung erfolgte wie oben beschrieben.

Ausbeute: 160 mg (40 %)

$[\alpha]_D^{20} = +32,0^\circ (c = 7,75, \text{Methanol})$

<sup>1</sup>H-NMR (DMSO-d<sub>6</sub>): 1,39 - 1,73 (m, 6H, -CH<sub>2</sub>-), 2,95 - 4,43 (m, 27H, 6x CH 2-6, 3x OCH<sub>2</sub>-, 3x CO-CH<sub>2</sub>-N, 3x CH<sub>2</sub>-N, O-CH<sub>3</sub>), 4,73 (d, 1H, J = 3,2, H-1), 6,42 - 6,71 (m, 6H, arom. CH), 6,83 - 7,31 (m, 3H, arom. CH), 7,93 (br, 3H, NH), 8,34 (3H, NH), 8,64 (br, 3H, arom. OH),

12,34 (br, 3H, arom. OH)

$^{13}\text{C}$ -NMR (DMSO- $d_6$ ): 29,84, 30,01, 30,12 (-CH<sub>2</sub>-), 35,95, 36,15, 36,35, (-CH<sub>2</sub>-N-), 42,39, 42,46, 42,50 (CO-CH<sub>2</sub>-N), 54,35 (O-CH<sub>3</sub>), 60,20 (C-6), 67,86, 69,79, 70,65 (O-CH<sub>2</sub>-), 71,34, 77,49, 79,99, 81,31 (C-2-5), 96,98 (C-1), 109,77, 110,47, 110,84, 112,89, 113,51, 113,87, 116,09, 116,37, 116,96, 117,25, 117,70, 118,01 (arom. C), 150,19, 150,77, 151,35, 151,85, 151,99, 152,75 (arom. C-OH), 164,89, 165,13, 165,76 (CO), 168,73, 168,91, 168,32 (CO)

MS (ESI)  $m/z$  945,4 [M+H]<sup>+</sup>, 967,6 [M+Na]<sup>+</sup>

*Methyl-2,3,4-tris-O-[N-[N-(2,3-dihydroxybenzoyl)- $\beta$ -alanyl]-3-aminopropyl]- $\alpha$ -D-glucopyranosid (10 g) C<sub>46</sub>H<sub>62</sub>N<sub>6</sub>O<sub>18</sub> (987,04 g/mol)*

**9 g** (1,2 g, 0,8 mmol) wurde zu 2 M Natronlauge (20 ml), welche zuvor 10 min mit Stickstoff gespült wurde, gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei Raumtemperatur gerührt und mit 1 N HCl neutralisiert. Dabei fiel ein grauer Feststoff aus, der abfiltriert und mit Wasser gewaschen wurde. Der Rückstand wurde in Essigester gelöst und mit gesättigter NaCl-Lösung und Wasser gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel abdestilliert. Das erhaltene Methyl-2,3,4-tris-O-{N-[N-(2,3-dihydroxybenzoyl)-**b**-alanyl]-aminopropyl}-6-O-trityl-**a**-D-glucopyranosid (620 mg, 63 %) wurde in Dichlormethan (40 ml) gelöst und bei Raumtemperatur mit BF<sub>3</sub>-Etherat (72 mg, 0,5 mmol) in Methanol (0,2 ml) versetzt. Man ließ so lange rühren, bis das intermediäre Produkt im Dünnschichtchromatogramm (Chloroform-Essigester-Essigsäure = 3:1:0,5; R<sub>f</sub> = 0,15) nicht mehr zu beobachten war (ca. 40 min). Durch Zugabe von Wasser wurde die Reaktion beendet. Die organische Phase wurde mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel verdampft. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte über eine HPLC. Man erhielt einen weißen Schaum.

Ausbeute: 230 mg (29 %)

$[\alpha]_D^{20} = +28,6^\circ$  ( $c = 9,2$ , Methanol)

$^1\text{H}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>): 1,54 - 1,74 (m, 6H, -CH<sub>2</sub>-), 2,4 - 2,6 (m, 6H, CH<sub>2</sub>N), 2,9 - 3,9 (m, 24 H), 3,32 (s,  $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 3,34 (s, 6H, CH<sub>2</sub>NH), 3,39 (s, 6H, CH<sub>2</sub>-CO), 4,8 (d, J = 3,4, H-1), 6,51 - 6,90 (m, 6H, NH), 6,97 - 7,23 (m, 9H, arom. H)

$^{13}\text{C}$ -NMR (CDCl<sub>3</sub>): 29,96, 30,15, 30,32 (-CH<sub>2</sub>-), 37,23, 37,74, 39,31 (-CH<sub>2</sub>-NH), 43,58, 43,75, 43,62 (CH<sub>2</sub>-NH), 55,32 ( $\alpha$  OCH<sub>3</sub>), 62,98 (C-6), 70,19 (O-CH<sub>2</sub>-), 70,69 (C-4), 71,07, 71,23 (O-CH<sub>2</sub>-), 76,70 (C-2), 77,68 (C-5), 78,19 (C-3), 86,65 (CPh<sub>3</sub>), 97,38 (C-1), 117,5, 119,02, 119,09, 119,16, 119,32, 119,56, 127,13, 127,87, 128,74, 128,82, 129,21, 129,52 (arom. C), 165,77, 168,33, 168,87 (CH<sub>2</sub>-CO-NH), 170,84, 170,92, 172,84 (CO-NH)

MS (ESI)  $m/z$  987,5 [M+H]<sup>+</sup>, 1009,9 [M+Na]<sup>+</sup>

*Methyl-2,3,4-tris-O-[2-(carboxymethyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glucopyranosid* (**14**)  $C_{19}H_{32}O_{12}$   
(452,46 g/mol)

Zunächst wurde **7** (500 mg, 0,84 mmol) mit gesättigter methanolischer HCl-Lösung (20 ml) zu **13** verseift. Die Lösung wurde 15 h gerührt, das Lösungsmittel im Vakuum entfernt und das Rohprodukt in  $CH_2Cl_2$  aufgenommen. Es wurde mit  $H_2O$  und gesättigter  $NaHCO_3$  gewaschen, über  $Na_2SO_4$  getrocknet und das Lösungsmittel abrotiert. Das Rohprodukt wurde über ein Kieselgelsäule chromatographiert (LM: Essigsäureethylester-Hexan v/v 5:2).  $R_f = 0,25$ .

Ausbeute: 250 mg (66 %)

MS (ESI) m/z 453,8  $[M+H]^+$ , 876,0  $[M+Na]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[2-(2,3-dihydroxybenzylidenhydrazinocarbonyl)ethyl]- $\alpha$ -D-glucopyranosid* (**15 a**)  $C_{37}H_{44}N_6O_{15}$  (812,79 g/mol)

Zu der Lösung von **14** (100 mg, 0,22 mmol) in Wasser (0,5 ml) wurde Hydrazinhydrat (80 %, 0,5 ml) gegeben. Die Mischung wurde 1 h unter Rückfluss erhitzt und anschließend das Lösungsmittel verdampft. Der Rückstand wurde in Essigsäure (2 ml) aufgenommen und mit 2,3-Dihydroxybenzaldehyd (138 mg, 0,53 mmol) versetzt. Die Lösung wurde erneut 2 h unter Rückfluss erhitzt. Das Rohprodukt wurde abfiltriert, mit Wasser säurefrei gewaschen und in Diethylether gelöst. Man trocknet über  $Na_2SO_4$ , filtriert ab und verdampft das Lösungsmittel. Die Reinigung des Rohprodukts erfolgte über eine HPLC. Man erhält **15 a** als einen weißen Schaum.

Ausbeute: 90 mg (50 %)

$^1H$ -NMR (DMSO- $d_6$ ): 2,45 - 2,49 (m, 4H,  $CH_2CO$ ), 2,82 - 2,97 (m, 2H,  $CH_2CO$ ), 3,22 - 3,25 (m, 4H,  $\alpha-OCH_3$ , CH), 3,34 - 3,48 (m, 8H,  $OCH_2$ , CH) 3,82 - 3,89 (m, 3 H), 4,74 (d,  $J = 3,0$ , 1H, H 1), 6,65 - 7,11 (m, 9 H, arom. H), 8,28 (d,  $J = 3,2$ , 3H, =CH-), 9,11 (br, 3H, C-OH), 9,37 (br, 3H, C-OH), 11,61 - 11,67 (3s, 3H, NH)

$^{13}C$ -NMR (DMSO- $d_6$ ): 35,45 (2C,  $COCH_2$ ), 35,73 ( $COCH_2$ ), 54,31 ( $\alpha-OCH_3$ ), 60,06 (C-6), 67,88 (2C, O- $CH_2$ ), 68,53 (O- $CH_2$ ), 71,16 (C-5), 77,38 (C-2), 80,27 (C-4), 81,35 (C-3), 97,03 (C-1), 116,57 - 122,68 (9C, arom. C), 141,93 (3C, arom. C), 145,52, 145,93 (arom. C-OH), 147,52 (3C, CHN), 172,04 (CO)

MS (ESI) m/z 813,3  $[M+H]^+$ , 835,5  $[M+Na]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[2-[2,3-di(methoxycarbonyloxy)benzylidenhydrazinocarbonyl]ethyl]- $\alpha$ -D-glucopyranosid (15 b)*  $C_{49}H_{56}N_6O_{27}$  (1161,02 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **15 a** aus **14** und 2,3-Di-(methoxycarbonyloxy)benzaldehyd [nach Rosenmund, 1926] hergestellt. Man erhält ein farbloses Öl.

Ausbeute: 70 mg (54 %)

$[\alpha]_D^{20} = +24,6$  (c = 7,5, Methanol)

$^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,45 - 2,49 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 2,82 - 2,97 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3,22 - 3,27 (m, 21H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 3,34 - 3,89 (m, 6H) 3,88 (d, J = 3,0, 1H, H-1), 6,83 - 7,43 (m, 9 H, arom. H), 8,73 (d, J = 3,2, 3H, =CH-), 11,34 - 11,53 (3s, 3H, NH)

$^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ ): 35,41 (2C,  $\text{COCH}_2$ ), 35,70 ( $\text{COCH}_2$ ), 54,25 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 60,45 (C-6), 67,76 (2C, O- $\text{CH}_2$ ), 68,13 (O- $\text{CH}_2$ ), 71,05 (C-5), 77,46 (C-2), 80,27 (C-4), 81,35 (C-3), 97,03 (C-1), 116,98 - 123,68 (9C, arom. C), 141,87 (3C, arom. C), 143,52, 143,93 (arom. C-OH), 147,49 (3C, CHN), 172,25 (CO)

MS (ESI) m/z 1161,8  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 1184,2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tri-O-[2-(carboxymethyl)methyl]- $\alpha$ -L-rhamnopyranosid (16)*,  $C_{19}H_{32}O_{11}$  (436,46 g/mol)

1,072 g (6,02 mmol) Methyl- $\alpha$ -L-rhamnopyranosid wurde unter Rühren bei  $-10\text{ }^\circ\text{C}$  mit 50  $\mu\text{L}$   $\text{BF}_3$ -Etherat und 2,37 g (2,2 ml) Diazoessigester versetzt. Nach Beendigung der  $\text{N}_2$ -Entwicklung (ca. 2 h) wurde die Lösung mit dest. Wasser versetzt und die wässrige Phase mit Diethylether extrahiert. Nach dem Trocknen über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  wurde die etherische Lösung eingengt. Der Rückstand wurde über eine Kieselgelsäule mit Essigsäurethylester-Hexan 2:1 (v/v) chromatographisch getrennt. Es traten zwei Hauptfraktionen (A:  $R_f = 0,86$  und B:  $R_f = 0,75$ ) auf. Das gewünschte Produkt A konnte als farbloses Öl gewonnen werden.

Ausbeute: 512 mg (19 %)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 16,82 (3C,  $\text{CH}_3$ ), 55,01 ( $\text{CH}_3$ ), 57,45 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 67,55 (C-5), 67,72 (O- $\text{CH}_2$ ), 69,07 (O- $\text{CH}_2$ ), 69,32 (3C, - $\text{CH}_2$ ), 70,85 (O- $\text{CH}_2$ ), 76,39 (C-4), 78,99 (C-3), 81,11 (C-2), 97,98 (C-1), 170,59 (3CO)

MS (ESI) m/z 454,3  $[\text{M}+\text{NH}_4]^+$ , 459,2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-O-Tris-[2-(2,3-di-(methoxycarbonyloxy)benzylidenhydrazinocarbonyl)methyl]- $\alpha$ -L-rhamnopyranosid (18),  $C_{46}H_{50}N_6O_{26}$  (1102,94 g/mol)*

400 mg (0,92 mmol) der Verbindung **16** wurden mit 165,2 mg Hydrazinhydrat versetzt und 2 h unter Rühren bis zum Sieden erhitzt. Die Beendigung der Reaktion erfolgte durch Zugabe von dest. Wasser. Das Produkt wurde mit Diethylether ausgeethert und das Lösungsmittel entfernt.

Die Reaktion wurde massenspektrometrisch kontrolliert:  $M_{th} = 394,39$  g/mol

MS (ESI) m/z 395,2  $[M+H]^+$ , 403,2  $[M+NH_4]^+$ , 417,3  $[M+Na]^+$

100 mg (0,25 mmol) dieses Rohprodukt (**17**) wurden in 3 ml Eisessig gelöst und mit 250 mg 2,3-Dimethoxycarbonylbenzaldehyd (0,98 mmol) versetzt und 0,5 h zum Sieden erhitzt.

Ausbeute: 56 mg (20 %)

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ ): 2,05 (s, 3H,  $CH_3$ ), 3,32 (m, 1H, H-5), 3,67 (s, 3H,  $\alpha$ - $OCH_3$ ), 3,87 - 3,94 (s, 3H,  $\alpha$ - $OCH_3$ ), 4,16 - 4,28 (m 3H, H-2-4), 4,65 (d,  $J = 3,2$ , 1H, H-1), 7,26 - 7,45 (m, 3H, arom. H), 7,54 - 7,57 (m, 3 H, arom. H), 7,76 - 7,93 (m, 3 H, arom. H), 8,31 (d,  $J = 3,2$ , 3H, =CH-), 8,69 (d,  $J = 3,2$ , 3H, =CH-), 8,75 (3H, =CH-), 9,21, 9,91, 9,97 (3s, 3H, NH)

$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ ): 20,45 ( $CH_3$ , C-6), 53,04 ( $\alpha$ - $OCH_3$ ), 56,04, 55,84, (6  $OCH_3$ ), 67,90 68,3( $OCH_2CO$ ), 67,76 ( $O-CH_2$ ), 68,32 ( $O-CH_2$ ), 69,78 ( $O-CH_2$ ), 70,14 ( $O-CH_2$ ), 71,05 (C-5), 70,52, 81,49, 82,79 (C-2-4), 98,71 (C-1), 119,5 - 129,6 (9C, arom. C), 140,95 (3C, arom. C), 142,94, 143,36 (6 arom. C-O), 152,75, 153,05, 156,70 (3C, CHN), 165,35, 165,79, 166,32 (3CO), 169,17, 169,23, 169,69 (6CO), 171,59, 171,65, 171,96 (6CO)

MS (ESI) m/z 1103,5  $[M+H]^+$ , 1125,4  $[M+Na]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-(3-aminopropyl)-6-O-trityl- $\alpha$ -D-galactopyranosid (20),  $C_{35}H_{49}N_3O_6$ , (607,8 g/mol)*

Die Verbindung wurde nach der Vorschrift für das entsprechende Derivat des Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosids **8** hergestellt. Man erhält einen weißen Schaum.

Ausbeute: 1,2 g (60 %)

$[\alpha]_D^{20} = + 48,4$  ( $c = 10,0$ , Methanol)

$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ ): 1,76 - 1,88 (m, 6H,  $-CH_2-$ ), 2,45 (m, 2H,  $CH_2-NH_2$ ), 2,82 (m, 4H,  $CH_2-NH_2$ ), 3,12 (dd,  $J = 7,4, 9,4$ , 1H), 3,29 - 3,38 (m, 3H), 3,47 (s, 3H,  $\alpha$ - $OCH_3$ ), 3,66 (m, 1H), 3,74 (m, 6H,  $O-CH_3$ ), 4,02 (m, 1H), 4,87 (d,  $J = 3,3$ , 1H, H-1), 7,21 - 7,33 (m, 9H, arom. H), 7,44 - 7,51 (m, 6H, arom. H)

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): 33,64, 33,83, 33,98, ( $-\text{CH}_2-$ ), 39,41, 39,42, 39,56 ( $\text{CH}_2\text{-NH}_2$ ), 55,09 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 62,71 (C-6), 68,97 ( $\text{O-CH}_2-$ ), 69,29 (C-4), 70,95 ( $\text{O-CH}_2-$ ), 75,70 (C-2), 77,19 (C-5), 78,62 (C-3), 87,11 ( $\text{CPh}_3$ ), 98,21 (C-1), 127,04, 127,93, 128,77, 143,96 (arom. C)  
MS (ESI)  $m/z$  608,3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 646,1  $[\text{M}+\text{K}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[N-(2,3-di(acetoxy)benzoyl)-3-aminopropyl]-6-O-trityl- $\alpha$ -D-galactopyranosid (21)*,  $\text{C}_{68}\text{H}_{73}\text{N}_3\text{O}_{21}$  (1268,4 g/mol)

Die Verbindung wurde nach der Vorschrift für das entsprechende Derivat des Methyl- $\alpha$ -D-glucopyranosids **9 a** hergestellt. Zu einer Lösung von **20** (1,2 g, 2 mmol), TEA (2,7 ml, 20 mmol) und DMAP (6 mmol) in absolutem THF (50 ml) wurde eine Lösung von 2,3-Diacetoxybenzoylchlorid (3,1 g, 12 mmol) in absolutem Tetrahydrofuran bei  $-15^\circ\text{C}$  unter Stickstoffatmosphäre gegeben. Die Reaktionsmischung wurde 1 h bei  $0^\circ\text{C}$  und 4 h bei Raumtemperatur gerührt. Nach der üblichen Aufarbeitung und Reinigung über die HPLC erhält man einen weißen Schaum.

DC (3:1:0,5 Chloroform-Essigester-Essigsäure):  $R_f = 0,47$

Ausbeute. 1,1 g (40 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +12,0$  ( $c = 5,0$ , Methanol)

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,46 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ), 1,77 (m,  $J = 6,3, 6,1$ , 4H,  $\text{CH}_2$ ), 2,23-2,28 (m, 18H,  $\text{COCH}_3$ ), 3,12 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ), 3,25-3,77 (m, 15 H,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ,  $\text{OCH}_2$ , CH), 4,11 (m, 1H, CH), 4,86 (d,  $J = 3,2$ , 1H, CH), 6,46 (m, 1H,  $\text{NHCO-}$ ), 6,83 (m, 1H,  $\text{NHCO}$ ), 6,89 (m, 1H,  $\text{NHCO}$ ), 7,16-7,48 (m, 24 H, arom. H)

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): 20,44, 20,49 ( $\text{CO-CH}_3$ ), 29,54, 29,62, 29,86 ( $-\text{CH}_2-$ ) 37,86, 37,95 ( $-\text{CH}_2\text{-NH}$ ) 54,64 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ) 62,25 (C-6), 69,07 (C-4), 70,12, 71,06, 71,74 ( $\text{O-CH}_2$ ), 78,50 (C-2), 80,46 (C-5), 81,53 (C-3), 86,31 ( $\text{CPh}_3$ ), 98,07 (C-1), 125,44, 128,68, 130,57, 140,14, 140,34, 142,95, 143,03, 143,78 (arom. C), 164,81, 165,03, 165,20 ( $\text{CO-NH}$ ), 167,90, 167,99, 168,1, 168,15, 168,19 ( $\text{CO-CH}_3$ )

MS (ESI)  $m/z$  1290,3  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[4-(N-benzoyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]-6-O-trityl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (31 a)*  $\text{C}_{65}\text{H}_{67}\text{N}_3\text{O}_{18}$  (1178,27 g/mol)

Zu einer Lösung von Methyl-6-O-triphenylmethyl- $\alpha$ -D-glucopyranosid **4** (500 mg, 1,16 mmol), *N*-Benzoyloxy-*N*-methylglutaramid (1,2 g, 4,53 mmol) und *N,N*-Dimethylamino-pyridin (DMAP) (0,1 g) in Dichlormethan (100 ml) wurde Dicyclohexylcarbodiimid (DCC) (950 mg, 4,53 mmol) bei  $0^\circ\text{C}$  unter Rühren gegeben. Die Reaktionsmischung wurde



anschließend 1 h bei dieser Temperatur und 24 h bei Raumtemperatur gerührt. Der ausgefallene Dicyclohexylharnstoff wurde abfiltriert und die Lösung mit 1 N HCl angesäuert. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert und der Rückstand in Essigester aufgenommen. Man wäscht mit gesättigter NaCl-Lösung und Wasser, trocknet über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtriert ab und verdampft das Lösungsmittel. Das Rohprodukt wurde über eine HPLC-Säule gereinigt. Man erhält **31 a** als farblosen Schaum.

Ausbeute: 700 mg (55 %)

$[\alpha]_D^{20} = +52,4$  (c = 7,5, Chloroform).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 1,92 - 1,97 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 2,19 - 2,38 (m, 12H, CH<sub>2</sub>CO), 3,08 (d, J = 3,7, 2H, H-6), 3,34 (s, 3H, α-OCH<sub>3</sub>), 3,37 - 3,40 (3s, 9H, NCH<sub>3</sub>), 3,85 (dt, J = 3,8, 10,2, 1H, H-5), 4,83 (dd, J = 3,7, 10,2, 1H, H2), 4,96 (d, J = 3,2, 1H, H-1), 4,97 (t, J = 10,0, 1H, H-4), 5,33 (t, J = 10,0, 1H, H-3), 7,19 - 7,27 (m, 9H), 7,42 - 7,52 (m, 12H), 6,60 - 7,69 (m, 3H), 8,03 - 8,12 (m, 6H)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 19,17 (-CH<sub>2</sub>-), 19,38 (2C, -CH<sub>2</sub>-), 30,69 (C, -CH<sub>2</sub>-CON), 30,84 (2C, -CH<sub>2</sub>-CON), 32,71, 32,81, 32,90 (-CH<sub>2</sub>-COO), 35,57 (NCH<sub>3</sub>), 55,00 (α-OCH<sub>3</sub>), 62,15 (C-6), 68,49, 68,91, 70,14, 70,96, 86,48 (CPh<sub>3</sub>), 96,38 (C-1), 126,66-129,88 (30C, arom. C), 134,36 (3C, arom. C), 143,54 (3C, arom. C), 164,18 (3C, CPh), 171,21 (3C, CON), 171,96 (3C, COO), 172,22 (3C, COO)

MS (ESI) m/z 1200,9 [M+Na]<sup>+</sup>

*Methyl-2,3,4-tris-O-[3-(N-benzyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-propionyl]-6-O-trityl-α-D-glucopyranosid (31 b)*, C<sub>62</sub>H<sub>67</sub>N<sub>3</sub>O<sub>15</sub> (1094,24 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **31 a** aus **4** und *N*-Benzyloxy-*N*-methyl-succinamid hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 900 mg (79 %)

$[\alpha]_D^{20} = +49,5$  (c = 10,0, Chloroform)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 2,36 - 2,65 (m, 12H, (-CH<sub>2</sub>-), 3,09 (dd, J = 7,0, 9,5, 1H), 3,11, 3,13, 3,14 (s, 9H), 3,3 (dd, J = 6,3, 9,5, 1H) 3,34 (s, 3H, α-OCH<sub>3</sub>), 3,95 (t, J = 6,5, 1H), 4,79, 4,83 (2s, 6H, CH<sub>2</sub>Ph), 4,9 (d, J = 3,2, 1H), 5,11 (dd, J = 3,5, 10,7, 1H), 5,35 (dd, J = 3,4, 11,8, 1H), 5,52 (d, J = 3,1, 1H), 7,18-7,38 (m, 30H)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 27,08, 27,15 (-CH<sub>2</sub>-CON), 28,47, 28,51, 28,55 (-CH<sub>2</sub>-COO), 33,63 (N-CH<sub>3</sub>), 55,38 (O-CH<sub>3</sub>), 61,78 (C-6), 67,55, 67,82, 68,30, 68,68, 76,2 (C-2-5), 76,25 (CH<sub>2</sub>-Ph), 86,90 (C-Ph<sub>3</sub>), 97,19 (C-1), 127,05-129,29 (30C), 134,60, 143,63, 171,76, 172,04, 172,223 (CO), 173,32 (CON)

MS (ESI) m/z 1112,0 [M+NH<sub>4</sub>]<sup>+</sup>, 1117,0 [M+Na]<sup>+</sup>

*Methyl-2,3,4-tris-O-[4-(N-benzyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]-6-O-trityl- $\alpha$ -D-glucopyranosid (31 c)* C<sub>65</sub>H<sub>73</sub>N<sub>3</sub>O<sub>15</sub> (1136,32 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **31 a** aus **4** und *N*-Benzyloxy-*N*-methyl-glutaramid hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 1,02 g (79 %)

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +47,6 (c = 10,0, Chloroform)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 1,56 - 1,79 (m, 6H, -CH<sub>2</sub>-), 2,22 - 2,37 (m, 12H, -CH<sub>2</sub>CO), 3,12 (d, J = 3,5, 2H, H-6), 3,17, 3,18 (s, 9H, NCH<sub>3</sub>), 3,44 (s, 3H,  $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 3,94 (dt, J = 2,4, 3,8, 1H, H-5), 4,79 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4,8 (s, 4H, CH<sub>2</sub>Ph), 4,89 (dd, J = 3,6, 10,2, 1H), 5,0 (d, J = 4,5, 1H), 5,05 (t, J = 10,1, 1H), 5,46 (t, J = 9,7, 1H), 7,18 - 7,46 (m, 30H)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 19,44, 19,61, 19,66 (-CH<sub>2</sub>-), 30,89, 31,01, (CH<sub>2</sub>-CON), 33,01, 33,12, 33,27 (CH<sub>2</sub>-COO), 33,57, 33,68, 33,88 (NCH<sub>3</sub>), 55,06 (OCH<sub>3</sub>), 62,25 (C-6), 68,62 (C-5), 68,96 (C-4), 70,15 (C-3), 71,02 (C-2), 76,19 (CH<sub>2</sub>-Ph), 86,53 (C-Ph<sub>3</sub>), 96,47 (C-1), 127,05-129,59 (30C, arom. C), 134,62, 143,67 (arom. C), 171,89, 172,18, 172,42, (CO), 174,25 (CON)

MS (ESI) m/z 1137,0 [M+H]<sup>+</sup>, 1159,8 [M+Na]<sup>+</sup>

*Methyl-2,3,4-tris-O-[4-(N-benzoyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]-6-O-trityl- $\alpha$ -D-galactopyranosid (32 a)*, C<sub>65</sub>H<sub>67</sub>N<sub>3</sub>O<sub>18</sub> (1178,27 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **31 a** aus Methyl-6-*O*-triphenylmethyl- $\alpha$ -*D*-galactopyranosid **19** und *N*-Benzoyloxy-*N*-methylglutaramid hergestellt.

Ausbeute: 730 mg (89 %) farbloser Schaum

[ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +46,7 (c = 10,0, Methanol).

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 1,78 - 1,95 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 2,18 - 2,41 (m, 12 H, CH<sub>2</sub>CO), 3,03 (dd, J = 7,0, 9,3, 1H, H-6), 3,26 (dd, J = 6,3, 9,3, 1H, H-6'), 3,33 (s, 3H,  $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 3,38 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 3,39 (s, 6H, NCH<sub>3</sub>), 3,95 (t, J = 6,7, 1H, H-5), 4,89 (d, J = 3,6 H), 4,96 (dd, J = 3,5, 10,6, 1H), 5,26 (dd, J = 3,3, 10,7, 1H, H), 5,46 (d, J = 2,4, 1H, H-1), 7,22-7,52 (m, 24H, arom. H), 8,05 - 8,08 (m, 6H, arom. H)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 19,09 (-CH<sub>2</sub>-), 19,43 (2C, -CH<sub>2</sub>-), 30,77 (2C, -CH<sub>2</sub>-CON), 30,92 (-CH<sub>2</sub>-CON), 32,67, 32,78, 32,91 (-CH<sub>2</sub>-COO), 35,63 (NCH<sub>3</sub>), 55,21 ( $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 61,67 (C-6), 67,35, 67,69, 68,28, 68,36, 70,53, 86,81 (CPh<sub>3</sub>), 96,93 (C-1), 126,68-129,94 (30C, arom. C),

134,24 (arom. C), 134,39 (2C, arom. C), 143,46 (3C, arom. C), 164,194 (3C, COPh), 171,86 (3C, CON), 171,91(3C, CO), 172,31 (3C, CO)

MS (ESI) m/z 1178,5 [M+H]<sup>+</sup>, 1201,7 [M+Na]<sup>+</sup>

*Methyl-2,3,4-tris-O-[3-(N-benzyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-propionyl]-6-O-trityl- $\alpha$ -D-galactopyranosid (32 b), C<sub>62</sub>H<sub>67</sub>N<sub>3</sub>O<sub>15</sub> (1094,24 g/mol)*

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **31 a** aus **19** und *N*-Benzyloxy-*N*-methylsuccinamid hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 1,01g (81 %)

$[\alpha]_D^{20} = +46,3$  (c = 8,5, Methanol)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 2,36 - 2,65 (m, 12H, -CH<sub>2</sub>-), 3,09 (dd, J = 7,0, 9,5, 1H), 3,11, 3,13, 3,14 (s, 9H), 3,3 (dd, J = 6,3, 9,5, 1H), 3,34 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,95 (t, J = 6,5, 1H), 4,79-4,83 (s, 6H), 4,9 (d, J = 3,2, 1H), 5,11 (dd, J = 3,5, 10,7, 1H), 5,35 (dd, J = 3,4, 11,8, 1H), 5,52 (d, J = 3,1, 1H), 7,18-7,38 (m, 30H)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 27,08, 27,15 (-CH<sub>2</sub>-CON), 28,47, 28,51, 28,55 (-CH<sub>2</sub>-COO), 33,63 (N-CH<sub>3</sub>), 55,38 (O-CH<sub>3</sub>), 61,78 (C-6), 67,55, 67,82, 68,30, 68,68, 76,2 (4C), 76,25 (CH<sub>2</sub>-Ph), 87,21 (C-Ph<sub>3</sub>), 98,75 (C-1), 127,05-129,29 (30C, arom. C), 134,60, 143,63, 171,76, 172,04, 172,22 (COO), 173,32 (CON)

MS (ESI) m/z 1094,8 [M+H]<sup>+</sup>, 1117,8 [M+Na]<sup>+</sup>

*Methyl-2,3,4-tris-O-[4-(N-benzyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]-6-O-trityl- $\alpha$ -D-galactopyranosid (32 c), C<sub>65</sub>H<sub>73</sub>N<sub>3</sub>O<sub>15</sub> (1136,32 g/mol)*

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **31 a** aus **19** und *N*-Benzyloxy-*N*-methylglutaramid hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 980 mg (75 %)

$[\alpha]_D^{20} = +47,4$  (c = 5,0, Methanol)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 1,56 - 1,79 (m, 6H, -CH<sub>2</sub>-), 2,22 - 2,37 (m, 12H, -CH<sub>2</sub>CO), 3,12 (d, J = 3,5, 2H, H-6, 6'), 3,17, 3,18 (s, 9H, NCH<sub>3</sub>), 3,44 (s, 3H,  $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 3,94 (dt, J = 2,4, 3,8, 1H, H-5), 4,79 (s, 2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4,8 (s, 4H, CH<sub>2</sub>Ph), 4,89 (dd, J = 3,6, 10,2, 1H), 5,0 (d, J = 4,5, 1H), 5,05 (t, J = 10,1, 1H), 5,46 (t, J = 9,7, 1H), 7,18 - 7,46 (m, 30H)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 19,44, 19,61, 19,66 (-CH<sub>2</sub>-), 30,89 31,01, (CH<sub>2</sub>-CON), 33,01, 33,12, 33,27 (CH<sub>2</sub>-COO), 33,57, 33,68, 33,88 (NCH<sub>3</sub>), 55,06 (OCH<sub>3</sub>), 62,25 (C-6), 68,62 (C-5), 68,96 (C-4), 70,15 (C-3), 71,02 (C-2), 76,19 (CH<sub>2</sub>-Ph), 86,53 (C-Ph<sub>3</sub>), 96,47 (C-1),

127,05 - 129,59 (30C arom. C), 134,62, 143,67 (arom. C), 171,89, 172,18, 172,42, (CO), 174,25 (CON)

MS (ESI) m/z 1136,7 [M+H]<sup>+</sup>, 1158,8 [M+Na]<sup>+</sup>

*Methyl-2,3,4-tris-O-[4-(N-benzoyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]- $\alpha$ -D-glucopyranosid (33 a), C<sub>46</sub>H<sub>53</sub>N<sub>3</sub>O<sub>18</sub> (935,94 g/mol)*

Zu einer Lösung von **31 a** (350 mg, 0,3 mmol) in Dichlormethan (50 ml) wurde BF<sub>3</sub>-Etherat (90 mg, 0,6 mmol) bei Raumtemperatur gegeben. Der Fortgang der Reaktion wurde über Dünnschichtchromatographie (Laufmittel: Chloroform-Essigester-Essigsäure = 3:1:0,5) überprüft. Nach Beendigung der Reaktion (ca. 40 min) wurde Wasser hinzugefügt. Die organische Phase wurde mit gesättigter NaCl-Lösung gewaschen, über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Der Rückstand wurde über eine HPLC-Säule gereinigt. Man erhält einen weißen Schaum.

Ausbeute: 570 mg (70 %)

$[\alpha]_D^{20} = +49,8$  (c = 8,0, Chloroform)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 1,78 - 1,90 (m, 12H, CH<sub>2</sub>), 2,21 - 2,35 (m, 12 H, CH<sub>2</sub>CO), 3,30 (s, 6H, NCH<sub>3</sub>), 3,32 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 3,34 (s, 3H,  $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 3,53 - 3,69 (m, 3H, H-5, H-6, H-6'), 4,87 (d, J = 3,7, 1H, H-1), 5,05 (dd, J = 3,6, 10,2, 1H, H-4), 5,32 (t, J = 11, 1H, H-2), 5,42 (t, J = 9,8, 1H, H-3), 7,45 - 7,50 (m, 6H, arom. H), 7,61 - 7,63 (m, 3H, arom. H), 8,01 - 8,05 (m, 6H, arom. H)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 19,17, 19,29, 19,38 (-CH<sub>2</sub>-), 30,67 (2C, -CH<sub>2</sub>-CON), 30,75 30,77 (-CH<sub>2</sub>-CON), 32,75 (2C, -CH<sub>2</sub>-COO), 32,86 (-CH<sub>2</sub>-COO), 35,57 (3C, NCH<sub>3</sub>) 55,21 ( $\alpha$ -OCH<sub>3</sub>), 60,75 (C-6), 68,67, 69,18, 69,58, 70,88, 96,60 (C-1), 126,52 (3C, arom. C), 128,79 (6C, arom. C), 129,87 (6 C, arom. C), 134,38 (3C, arom. C), 164,17 (3C, CPh), 171,95 (3C, CON), 172,14 (3C, CO), 172,53 (3C, COO)

MS (ESI) m/z 936,3 [M+H]<sup>+</sup>, 958,7 [M+Na]<sup>+</sup>

*Methyl-2,3,4-tris-O-[3-(N-benzyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-propionyl]- $\alpha$ -D-glucopyranosid (33 b), C<sub>43</sub>H<sub>53</sub>N<sub>3</sub>O<sub>15</sub> (851,91 g/mol)*

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **33 a** aus **31 b** hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 389 mg (49 %)

$[\alpha]_D^{20} = +48,2$  (c = 8,3, Chloroform)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 2,28 - 2,42 (m, 12H,  $-\text{CH}_2-$ ), 3,14 (s, 3H,  $\text{N-CH}_3$ ), 3,16 (s, 6H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,32 (s, 3H,  $\text{O-CH}_3$ ), 3,55 - 3,64 (m, 2H, H-6, 6'), 3,72 (dt,  $J = 2,6, 9,8$ , 1H, H-5), 4,79, 4,80, 4,81 (s, 6H,  $-\text{CH}_2\text{-Ph}$ ), 4,85 (d,  $J = 3,5$ , 1H, H-1), 4,9 (d,  $J = 3,4$  1H, H-3), 5,0 (t,  $J = 9,5$ , 1H), 5,5 (t,  $J = 9,2$ , 1H), 7,3 - 7,45 (m, 15H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 19,52, 19,58, 19,73 ( $-\text{CH}_2-$ ), 30,93, 31,02 ( $\text{CO-CH}_2-$ ), 33,07, 33,18, 33,26 ( $-\text{CH}_2\text{-CON}$ ), 33,54 ( $-\text{N-CH}_3$ ), 55,29 ( $\text{OCH}_3$ ), 60,86 (C-6), 68,73 (C-5), 69,31 (C-2), 69,59 (C-3), 69,96 (C-4), 76,18 ( $\text{O-CH}_2-$ ), 96,75 (C-1), 128,65, 128,88, 128,92, 129,22, 134,47 (arom. C), 172,76 (CON), 174,01 (CO).

MS (ESI)  $m/z$  852,3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 874,2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[4-(N-benzyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]- $\alpha$ -D-glucopyranosid*

**(33 c)**,  $\text{C}_{46}\text{H}_{59}\text{N}_3\text{O}_{15}$  (893,99 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **33 a** aus **31 c** (Reaktionszeit 1 h) hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 540 mg (70 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +45,6$  ( $c = 10,0$ , Chloroform)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,77 - 1,89 (m, 6H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2,22 - 2,44 (m, 12H,  $-\text{CH}_2-$ ), 3,13 (s, 3H,  $\text{N-CH}_3$ ), 3,16 (s, 6H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,34 (s, 3H,  $\text{O-CH}_3$ ), 3,55 - 3,69 (m, 2H, H-6, H-6'), 3,7 (dt,  $J = 2,3, 10$ , 1H, H-5), 4,79, 4,80, 4,81 (s, 6H,  $-\text{CH}_2\text{-Ph}$ ), 4,85 (d,  $J = 3,6$ , 1H, H-1), 4,9 (d,  $J = 3,4$  1H, H-2), 5,0 (t,  $J = 9,7$ , 1H, H-4), 5,5 (t,  $J = 9,1$ , 1H, H-3), 7,3 - 7,4 (m, 15H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 19,52, 19,58, 19,73 ( $-\text{CH}_2-$ ), 30,93, 31,02 ( $\text{OCO-CH}_2-$ ), 33,07, 33,18, 33,26 ( $-\text{CH}_2\text{-CON}$ ), 33,54 ( $-\text{N-CH}_3$ ), 55,29 ( $\text{OCH}_3$ ), 60,86 (C-6), 68,73 (C-5), 69,31 (C-2), 69,59 (C-3), 69,96 (C-3), 76,18 ( $\text{O-CH}_2-$ ), 96,75 (C-1), 128,65, 128,88, 128,92, 129,22, 134,47 (arom. C), 172,16, 172,37, 172,76 (CON), 174,01 (CO)

MS (ESI)  $m/z$  894,8  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 916,9  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[3-(N-hydroxy-N-methylcarbamoyl)-n-propionyl]- $\alpha$ -D-glucopyranosid*

**(33 d)**,  $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_{15}$  (581,54 g/mol)

**33 b** (150 mg, 0,18 mmol) wurde in Methanol (50 ml) gelöst und 2h über Pd/C (10 %, 20 % w/w) bei Raumtemperatur und unter Atmosphärendruck hydriert. Man erhält ein gelbes Öl.

Ausbeute: 92 mg (88 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +59,0$  ( $c = 10,0$ , Methanol)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 2,60 - 2,77 (m, 12H,  $\text{CH}_2$ ), 3,19 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,26 (s, 6H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,42 (s, 3H,  $\text{O-CH}_3$ ), 4,07 (t,  $J = 6,0$ , 1H), 4,11 (d,  $J = 2,1$ , 1H), 4,25 (d,  $J = 5,5$ , 1H), 4,9 (d,  $J = 3,5$ , 1H), 5,24 (dd,  $J = 2,7, 10,8$ , 1H), 5,28 (dd,  $J = 3,5, 10,3$ , 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 28,10 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 29,62 ( $\text{CO-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-}$ ), 36,33 ( $-\text{N-CH}_3$ ), 55,73 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 64,54 (C-6), 68,35 (C-5), 69,44 (C-2), 69,99 (C-3), 70,43 (C-4), 98,62 (C-1), 173,89 (NCO), 174,17 (OCO);

MS (ESI)  $m/z$  582,4  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 604,2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

Elementaranalyse:	C	H	N
ber.	45,44	6,07	7,23
gef.	45,29	6,21	7,19

*Methyl-2,3,4-tris-O-[4-(N-hydroxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]- $\alpha$ -D-glucopyranosid*  
(**33e**),  $\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_{15}$  (623,62 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **33 d** aus **33 c** (Reaktionszeit 3 h) hergestellt. Man erhält ein gelbes Öl.

Ausbeute: 210 mg (75 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +64,0$  ( $c = 10$ , Methanol)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 1,55 - 1,74 (m, 6H,  $\text{CH}_2$ ), 2,60-2,77 (m, 12H,  $\text{CH}_2$ ), 3,19 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,26 (s, 6H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,42 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 4,07 (t,  $J = 6,0$ , 1H), 4,11 (d,  $J = 2,1$ , 1H), 4,25 (d,  $J = 5,5$ , 1H), 4,9 (d,  $J = 3,5$ , 1H), 5,24 (dd,  $J = 2,7, 10,8$ , 1H), 5,28 (dd,  $J = 3,5, 10,3$ , 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 28,10 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 29,62 ( $\text{CO-}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-}$ ), 36,33 ( $-\text{N-CH}_3$ ), 55,73 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 64,54 (C-6), 68,35 (C-5), 69,44 (C-2), 69,99 (C-3), 70,43 (C-4), 98,62 (C-1), 173,89 (NCO), 174,17 (OCO)

MS (ESI)  $m/z$  624,5  $[\text{M}+\text{H}]^+$

Elementaranalyse:	C	H	N
ber.	48,15	6,63	6,74
gef.	48,02	6,72	6,72

*Methyl-2,3,4-tris-O-[4-(N-benzoyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]- $\alpha$ -D-galactopyranosid*  
(**34 a**),  $\text{C}_{46}\text{H}_{53}\text{N}_3\text{O}_{18}$  (935,94 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **33 a** aus **32 a** (Reaktionszeit 1,5 h) hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 520 mg (89 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +49,0$  ( $c = 10,0$ , Methanol)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,86 - 1,97 (m, 6H,  $\text{CH}_2$ ), 2,21 - 2,44 (m, 12 H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3,30 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 3,34 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,36 (s, 6H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,48 (dd,  $J = 6,8, 11,5$ , 1H, H6), 3,54 ( $J = 6,6, 11,5$ , H6'), 3,94 (t,  $J = 6,6$  1H, H5), 4,90 (d,  $J = 3,4$ , 1H, H1), 5,05 (dd,  $J = 3,6, 10,6$ , 1H, H2), 5,25 (dd,  $J = 3,3, 10,6$ , 1H, H4), 5,37 (t,  $J = 3,0$ , 1H, H-3), 7,45 - 7,52 (m, 6H, arom. H), 7,60 - 7,67 (m, 3H, arom. H), 8,03 - 8,07 (m, 6H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 19,19 ( $\text{CH}_2$ -), 19,37 (2C,  $-\text{CH}_2$ -), 30,77 (2C,  $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 30,78 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CON}$ ), 32,73 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 32,87 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 32,92 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 35,59 (3C,  $\text{NCH}_3$ ) 55,30 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 60,50 (C-6), 67,58, 68,34, 68,49, 68,59 (C-2-5), 97,04 (C-1), 126,59 (3C, arom. C), 128,78 (6C, arom. C), 129,92 (6 C, arom. C), 134,43 (3C, arom. C), 164,21 (3C, CPh), 171,86 (3C, CON), 172,34 (3C, COO), 172,95 (3C, COO)

MS (ESI)  $m/z$  936,5  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 958,8  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[3-(N-benzyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-propionyl]- $\alpha$ -D-galactopyranosid (34 b)*,  $\text{C}_{43}\text{H}_{53}\text{N}_3\text{O}_{15}$  (851,91 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **34 a** aus **32 b** (Reaktionszeit 1 h) hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 140 mg (53 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +48,4$  ( $c = 10,0$ , Methanol)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,86 - 1,97 (m, 6H,  $-\text{CH}_2$ -), 2,21 - 2,44 (m, 12 H,  $-\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 3,30 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 3,34 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,36 (s, 6H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,48 (dd,  $J = 6,8, 11,5$ , 1H, H6), 3,54 ( $J = 6,6, 11,5$ , H6'), 3,94 (t,  $J = 6,6$ , 1H, H5), 4,90 (d,  $J = 3,4$ , 1H, H1), 5,05 (dd,  $J = 3,6, 10,6$ , 1H, H2), 5,25 (dd,  $J = 3,3, 10,6$ , 1H, H4), 5,37 (t,  $J = 3,0$ , 1H, H-3), 7,45 - 7,52 (m, 6H, arom. H), 7,60 - 7,67 (m, 3H, arom. H), 8,03 - 8,07 (m, 6H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 19,19 ( $\text{CH}_2$ -), 19,37 (2C,  $-\text{CH}_2$ -), 30,77 (2C,  $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 30,78 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 32,73 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 32,87 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 32,92 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 35,59 (3C,  $\text{NCH}_3$ ) 55,30 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 60,50 (C-6), 67,58, 68,34, 68,49, 68,59, 98,04 (C-1), 126,59 (3C, arom. C), 128,78 (6C, arom. C), 129,92 (6 C, arom. C), 134,43 (3C, arom. C), 164,21 (3C, CPh), 171,86 (3C, CON), 172,34 (3C, COO), 172,95 (3C, COO)

MS (ESI)  $m/z$  852,4  $[\text{M}+\text{H}]^+$  874,3  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[4-(N-benzyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]- $\alpha$ -D-galactopyranosid (34 c)*,  $\text{C}_{46}\text{H}_{59}\text{N}_3\text{O}_{15}$  (893,99 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **33 a** aus **32 c** (Reaktionszeit 2 h) hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 360 mg (47 %)

$[\alpha]_D^{20} = +47,1$  (c = 5,0, Methanol)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,86 - 1,97 (m, 6H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2,21 - 2,44 (m, 12 H,  $-\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 3,30 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 3,34 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,36 (s, 6H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,48 (dd, J = 6,8, 11,5, 1H, H-6), 3,54 (dd, J = 6,6, 11,5, H-6'), 3,94 (t, J = 6,6, 1H, H-5), 4,90 (d, J = 3,4, 1H, H-1), 5,05 (dd, J = 3,6, 10,6, 1H, H-2), 5,25 (dd, J = 3,3, 10,6, 1H, H-4), 5,37 (t, J = 3,0, 1H, H-3), 7,45 - 7,52 (m, 6H, arom. H), 7,60 - 7,67 (m, 3H, arom. H), 8,03 - 8,07 (m, 6H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 19,19 ( $\text{CH}_2-$ ), 19,37 (2C,  $-\text{CH}_2-$ ), 30,77 (2C,  $-\text{CH}_2\text{-CON}$ ), 30,78 ( $-\text{CH}_2\text{-CON}$ ), 32,73 ( $-\text{CH}_2\text{-COO}$ ), 32,87 ( $-\text{CH}_2\text{-COO}$ ), 32,92 ( $-\text{CH}_2\text{-COO}$ ), 35,59 (3C,  $\text{NCH}_3$ ), 55,30 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 60,50 (C-6), 67,58, 68,34, 68,49, 68,59 (C-2-5), 97,04 (C-1), 126,59 (3C, arom. C), 128,78 (6C, arom. C), 129,92 (6 C, arom. C), 134,43 (3C, arom. C), 164,21 (3C, C(=O)Ph), 171,86 (3C, CON), 172,34 (3C, COO), 172,95 (3C, COO)

MS (ESI) m/z 894,6  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 916,7  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[3-(N-hydroxy-N-methylcarbamoyl)-n-propionyl]- $\alpha$ -D-galactopyranosid*  
(**34 d**),  $\text{C}_{22}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_{15}$  (581,54 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **33 d** aus **34 b** (Reaktionszeit 2 h) hergestellt. Man erhält ein gelbes Öl.

Ausbeute: 80 mg (84 %)

$[\alpha]_D^{20} = +58,4$  (c = 5,0, Methanol)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 2,05 - 2,49 (m, 12 H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3,26 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,26 (s, 6H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,34 (s, 6H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 3,49 (t, J = 9,8, 1H, H-6), 3,52 (dd, J = 6,6, 11,5, H-6'), 4,18 (t, J = 6,6, 1H, H-5), 4,80 (d, J = 3,4, 1H, H-1), 5,05 (dd, J = 3,6, 10,6, 1H, H-2), 5,25 (dd, J = 3,3, 10,6, 1H, H-4), 5,37 (dd, J = 3,0, 1H, H-3)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 19,19 ( $\text{CH}_2-$ ), 19,37 (2C,  $-\text{CH}_2-$ ), 30,77 (2C,  $-\text{CH}_2\text{-CON}$ ), 30,78 ( $-\text{CH}_2\text{-CON}$ ), 32,73 ( $-\text{CH}_2\text{-COO}$ ), 32,87 ( $-\text{CH}_2\text{-COO}$ ), 32,92 ( $-\text{CH}_2\text{-COO}$ ), 35,59 (3C,  $\text{NCH}_3$ ), 55,30 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 64,67 (C-6), 70,88, 72,42, 73,02, 74,75 (C-2-5), 98,28 (C-1), 172,34 (3C, CON), 172,95 (3C, COO)

MS (ESI) m/z 582,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 604,2  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[4-(N-hydroxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]- $\alpha$ -D-galactopyranosid*  
(**34 e**),  $\text{C}_{25}\text{H}_{41}\text{N}_3\text{O}_{15}$  (623,62 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **33 e** aus **34 c** (Reaktionszeit 3,5 h) hergestellt. Man erhält ein gelbes Öl.



Ausbeute: 220 mg (89 %)

$[\alpha]_D^{20} = +62,7$  (c = 10,0, Methanol)

$^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ ): 1,79 - 1,85 (m, 6H,  $\text{CH}_2$ ), 2,21 - 2,44 (m, 12 H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3,30 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 3,34 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,36 (s, 6H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,3,48 (dd, J = 6,8, 11,5, 1H, H-6), 3,54 (J = 6,6, 11,5, H-6'), 3,94 (t, J = 6,6 1H, H-5), 4,90 (d, J = 3,4, 1H, H-1), 5,05 (dd, J = 3,6, 10,6, 1H, H-2), 5,25 (dd, J = 3,3, 10,6, 1H, H-4), 5,37 (dd, J = 3,0, 1H, H-3)

$^{13}\text{C-NMR}$  (DMSO- $d_6$ ): 19,19 ( $\text{CH}_2$ -), 19,37 (2C,  $-\text{CH}_2$ -), 30,77 (2C,  $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 30,78 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 32,73 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 32,87 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 32,92 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 35,59 (3C,  $\text{NCH}_3$ ) 55,30 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 60,50 (C-6), 67,58, 68,34, 68,49, 68,59, 98,35 (C-1), 171,86 (3C, CON), 172,34 (3C, COO), 172,95 (3C, COO)

MS (ESI) m/z 624,4  $[\text{M}+\text{H}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[4-(N-benzoyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]- $\alpha$ -D-ribofuranosid*  
(**35 a**),  $\text{C}_{45}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_{17}$  (905,52 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **31 a** aus Methyl- $\alpha$ -D-ribofuranosid **22** und N-Benzoyloxy-N-methylglutaramid hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 133 mg (35 %)

$[\alpha]_D^{20} = +16,5$  (c = 10,0, Methanol)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,88 - 1,98 (m, 6H,  $\text{CH}_2$ ), 2,31 - 2,39 (m, 12 H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3,29 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,36 (s, 6H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,38 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 4,22 - 4,26 (m, 2H, H-5, H-5'), 4,80 (d, J = 3,6 1H, H-1), 5,02 (dd, J = 3,7, 6,4, 1H, H-2), 5,12 (dd, J = 3,4, 6,5, 1H, H-4), 5,22 (t, J = 5,7, 1H, H-3), 7,45 - 7,50 (m, 6H, arom. H), 7,61 - 7,63 (m, 3H, arom. H), 8,01 - 8,12 (m, 6H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 19,18 ( $-\text{CH}_2$ -), 19,33 (2C,  $-\text{CH}_2$ -), 30,70 (3C,  $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 32,62, 32,80, 32,91 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 35,48 (3C,  $\text{NCH}_3$ ) 55,15 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 64,14 (C-5), 71,34, 74,47, 78,47, 79,09, 106,08 (C-1), 126,69 (3C, arom. C), 128,84 (6C, arom. C), 129,95 (6C, arom. C), 134,41 (3C, arom. C), 164,23 (3C, COPh), 171,79 (3C, CON), 172,44 (3C, OCO), 172,56 (3C, OCO)

MS (ESI) m/z 906,4  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 928,3  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[3-(N-benzoyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-propionyl]- $\alpha$ -D-ribofuranosid*  
(**35 b**),  $\text{C}_{42}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_{14}$  (821,89 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **31 a** aus **22** und N-Benzoyloxy-N-methylsuccinamid hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 350 mg (38 %)

$[\alpha]_D^{20} = +8,4$  ( $c = 10,0$ , Chloroform)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 2,36 - 2,39 (m, 12 H,  $-\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 3,29 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,36 (s, 6H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,38 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 4,22 - 4,28 (m, 2H, H-5, H-5'), 4,80 (d,  $J = 3,6$ , 1H, H-1), 5,02 (dd,  $J = 3,7$ , 6,4, 1H, H-2), 5,16 (dd,  $J = 3,4$ , 6,5, 1H, H-4), 5,27 (t,  $J = 5,7$ , 1H, H-3), 7,46 - 7,62 (m, 9H, arom. H), 8,01 - 8,07 (m, 6H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 27,57 (3C,  $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 28,66, 28,89, 28,93 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 34,13 (3C,  $\text{NCH}_3$ ), 55,96 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 64,01 (C-5), 71,34, 72,11, 76,69, 80,06, 102,31 (C-1), 129,10 - 129,66 (15C, arom. C), 134,41 (3C, arom. C), 171,79 (3C, CON), 172,56 (3C, OCO)

MS (ESI)  $m/z$  821,8  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 844,0  $[\text{M}+\text{H}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[4-(N-benzyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]- $\alpha$ -D-ribopyranosid*

(**35 c**),  $\text{C}_{45}\text{H}_{57}\text{N}_3\text{O}_{14}$  (863,97 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **31 a** aus **22** und *N*-Benzyloxy-*N*-methylglutaramid hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 320 mg (24 %)

$[\alpha]_D^{20} = +12,6$  ( $c = 5,0$ , Chloroform)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,88 - 1,98 (m, 6H,  $-\text{CH}_2-$ ), 1,58 - 1,77 (m, 6H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2,31 - 2,39 (m, 12 H,  $-\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 3,34 (s, 9H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,36 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 4,22 - 4,26 (m, 2H, H-5, H-5'), 4,80 (d,  $J = 3,6$ , 1H, H-1), 5,02 (dd,  $J = 3,7$ , 6,4, 1H, H-2), 5,12 (dd,  $J = 3,2$ , 6,3, 1H, H-4), 5,22 (t,  $J = 5,5$ , 1H, H-3), 7,45 - 7,50 (m, 6H, arom. H), 7,61 - 7,63 (m, 3H, arom. H), 8,01 - 8,05 (m, 6H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 19,18 ( $-\text{CH}_2-$ ), 19,33 (2C,  $-\text{CH}_2-$ ), 30,70 (3C,  $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 32,62, 32,80, 32,91 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 35,48 (3C,  $\text{NCH}_3$ ), 55,15 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 64,14 (C-5), 71,34, 74,47, 78,47, 79,09, 106,08 (C-1), 126,69 (3C, arom. C), 128,84 (6C, arom. C), 129,95 (6C, arom. C), 134,41 (3C, arom. C), 171,79 (3C, CON), 172,48 (3C, OCO), 172,56 (3C, OCO)

MS (ESI)  $m/z$  864,5  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 886,7  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

*Methyl-2,3,4-tris-O-[3-(N-hydroxy-N-methylcarbamoyl)-n-propionyl]- $\alpha$ -D-ribopyranosid*

(**35 d**),  $\text{C}_{21}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_{14}$  (551,51 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **31 d** aus **35 b** (Reaktionszeit 1,5 h) hergestellt. Man erhält ein blassgelbes Öl.

Ausbeute: 160 mg (50 %)

$[\alpha]_D^{20} = +23,2$  ( $c = 3,5$ , Methanol)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 2,31 - 2,39 (m, 12 H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3,29 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,36 (s, 6H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,38 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 4,22 - 4,26 (m, 2H, H-5, H-5'), 4,80 (d,  $J = 3,6$ , 1H, H-1), 5,02 (dd,  $J = 3,7$ , 6,4, 1H, H-2), 5,12 (dd,  $J = 3,4$ , 6,5, 1H, H-4), 5,22 (t,  $J = 5,7$ , 1H, H-3)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 30,70 (3C,  $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 32,62, 32,80, 32,91 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 35,48 (3C,  $\text{NCH}_3$ ), 55,15 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 64,14 (C-5), 71,34, 74,47, 78,47, 79,09, 103,87 (C-1), 171,79 (3C, CON), 172,44 (3C, OCO), 172,56 (3C, OCO)

MS (ESI)  $m/z$  552,4  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 574,3  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[4-(N-benzoyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]- $\alpha$ -D-xylopyranosid*  
(**36 a**),  $\text{C}_{45}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_{17}$  (905,52 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **31 a** aus Methyl- $\alpha$ -D-xylopyranosid **26** und *N*-Benzoyloxy-*N*-methylglutaramid hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 640 mg (46 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +8,6$  ( $c = 10,0$ , Chloroform)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,88 - 1,98 (m, 6H,  $\text{CH}_2$ ), 2,31-2,39 (m, 12 H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3,29 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,36 (s, 6H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,38 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 4,22 - 4,26 (m, 2H, H-5, H-5'), 4,80 (d,  $J = 3,6$ , 1H, H-1), 5,02 (dd,  $J = 3,7$ , 6,4, 1H, H-2), 5,12 (dd,  $J = 3,4$ , 6,5, 1H, H-4), 5,22 (t,  $J = 5,7$ , 1H, H-3), 7,45 - 7,50 (m, 6H, arom. H), 7,61 - 7,63 (m, 3H, arom. H), 8,01 - 8,06 (m, 6H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 19,26, 19,37, 19,48 ( $-\text{CH}_2-$ ), 30,79 (3C,  $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 32,81, 32,95, 33,88 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 35,51 (3C,  $\text{NCH}_3$ ), 55,26 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 58,10 (C-5), 69,18 (C-4), 69,23 (C-2), 70,91 (C-3), 96,72, (C-1), 126,66 (3C, arom. C), 128,84 (6C, arom. C), 129,94 (6C, arom. C), 134,42 (3C, arom. C), 164,22 (3C, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 171,91 (3C, CON), 171,98 (3C, COO), 172,24, (3C, COO)

MS (ESI)  $m/z$  906,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 928,4  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[3-(N-benzoyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-propionyl]- $\alpha$ -D-xylopyranosid*  
(**36 b**),  $\text{C}_{42}\text{H}_{51}\text{N}_3\text{O}_{14}$  (821,89 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **31 a** aus **26** und *N*-Benzoyloxy-*N*-methylsuccinamid hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 400 mg (32 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +4,0$  ( $c = 10,0$ , Chloroform)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 2,31 - 2,39 (m, 12 H,  $-\text{CH}_2\text{-CO}$ ), 3,29 (s, 9H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,38 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 4,22 - 4,26 (m, 2H, H-5, H-5'), 4,80 (d,  $J = 3,6$ , 1H), 5,02 (dd,  $J = 3,7$ , 6,4,

<sup>1</sup>H), 5,12 (dd, J = 2,4, 9,6, 1H), 5,22 (t, J = 9,6, 1H), 7,20 - 7,28 (m, 6H, arom. H), 7,34 - 7,39 (m, 9H, arom. H)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 27,09 (3C, -CH<sub>2</sub>-CON), 28,53, 28,74 (-CH<sub>2</sub>-CO), 33,41 (3C, NCH<sub>3</sub>), 55,26 (α-OCH<sub>3</sub>), 58,10 (C-5), 74,19 (2C, CH<sub>2</sub>Ph), 74,72 (C-2), 75,42 (CH<sub>2</sub>Ph), 76,29 (C-4), 77,49 (C-3), 101,66, (C-1), 127,62-129,94 (15C, arom. C), 138,40 (3C, arom. C), 171,60 (C, CO), 171,78 (2C, CO), 173,12 (3C, CON)

MS (ESI) m/z 822,4 [M+H]<sup>+</sup>, 844,6 [M+Na]<sup>+</sup>

*Methyl-2,3,4-tris-O-[4-(N-benzyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]-α-D-xylopyranosid*

(**36 c**), C<sub>45</sub>H<sub>57</sub>N<sub>3</sub>O<sub>14</sub> (863,97 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **31 a** aus **26** und *N*-Methyl-*N*-(benzyloxy)-glutaramid hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 340 mg (43 %)

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +7,9 (c = 5,0, Chloroform)

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 1,88 - 1,98 (m, 6H, -CH<sub>2</sub>-), 2,31 - 2,39 (m, 12 H, -CH<sub>2</sub>-CO), 3,29 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 3,36 (s, 6H, NCH<sub>3</sub>), 3,38 (s, 3H, α-OCH<sub>3</sub>), 4,22 - 4,26 (m, 2H, H-5, H-5'), 4,80 (d, J = 3,6, 1H, H-1), 5,02 (dd, J = 3,7, 6,4, 1H, H-2), 5,12 (dd, J = 3,4, 6,5, 1H, H-4), 5,22 (t, J = 5,7, 1H, H-3), 7,45 - 7,50 (m, 6H, arom. H), 7,61 - 7,63 (m, 3H, arom. H), 8,01 - 8,05 (m, 6H, arom. H)

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 19,26, 19,37, 19,48 (-CH<sub>2</sub>-), 30,79 (3C, -CH<sub>2</sub>-CON), 32,81, 32,95, 33,88 (-CH<sub>2</sub>-COO), 35,51 (3C, NCH<sub>3</sub>), 55,26 (α-OCH<sub>3</sub>), 58,10 (C-5), 69,18 (C-4), 69,23 (C-2), 70,91 (C-3), 96,72, (C-1), 127,62-129,94 (15C, arom. C), 138,40 (3C, arom. C), 171,60 (C, CO), 171,78 (2C, CO), 173,12 (3C, CON)

MS (ESI) m/z 864,7 [M+H]<sup>+</sup>, 886,4 [M+Na]<sup>+</sup>

*Methyl-2,3,4-tris-O-[3-(N-hydroxy-N-methylcarbamoyl)-n-propionyl]-α-D-xylopyranosid*

(**36 d**), C<sub>21</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>14</sub> (551,51 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **33 d** aus **36 b** (Reaktionszeit 1 h) hergestellt. Man erhält ein blassgelbes Öl.

Ausbeute: 170 mg (70 %)

[α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = + 26,4 (c = 5,0, Methanol)

<sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD): 2,31 - 2,39 (m, 12 H, CH<sub>2</sub>CO), 3,29 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 3,36 (s, 6H, NCH<sub>3</sub>), 3,38 (s, 3H, α-OCH<sub>3</sub>), 4,22 - 4,26 (m, 2H, H-5, H-5'), 4,80 (d, J = 3,6 1H, H-1), 5,02 (dd, J = 3,7, 6,4, 1H, H-2), 5,12 (dd, J = 3,4, 6,5, 1H, H-4), 5,22 (t, J = 5,7, 1H, H-3)

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 30,79 (3C,  $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 32,81, 32,95, 33,88 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 35,51 (3C,  $\text{NCH}_3$ ), 55,26 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 58,10 (C-5), 69,18 (C-4), 69,23 (C-2), 70,91 (C-3), 96,72, (C-1), 171,91(3C, CON), 172,24, (3C, COO)

MS (ESI)  $m/z$  552,2  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 574,3  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*Methyl-2,3,4-tris-O-[4-(N-hydroxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]- $\alpha$ -D-xylopyranosid*

(**36 e**),  $\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_{14}$  (593,59 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **33 d** aus **36 c** (Reaktionszeit 2 h) hergestellt. Man erhält ein blassgelbes Öl.

Ausbeute: 200 mg (87 %)

$[\alpha]_{\text{D}}^{20} = +24,1$  ( $c = 1,0$ , Methanol)

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,88 - 1,98 (m, 6H,  $\text{CH}_2$ ), 2,31 - 2,39 (m, 12 H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3,29 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,36 (s, 6H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,38 (s, 3H,  $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 4,22 - 4,26 (m, 2H, H-5, H-5'), 4,80 (d,  $J = 3,6$ , 1H, H1), 5,02 (dd,  $J = 3,7$ , 6,4, 1H, H2), 5,12 (dd,  $J = 3,4$ , 6,5, 1H, H4), 5,22 (t,  $J = 5,7$ , 1H, H-3)

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): 19,26, 19,37, 19,48 ( $-\text{CH}_2-$ ), 30,79 (3C,  $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 32,81, 32,95, 33,88 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 35,51 (3C,  $\text{NCH}_3$ ), 55,26 ( $\alpha\text{-OCH}_3$ ), 58,10 (C-5), 69,18 (C-4), 69,23 (C-2), 70,91 (C-3), 96,72, (C-1), 171,91(3C, CON), 171,98 (3C, COO)

MS (ESI)  $m/z$  594,3  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 616,4  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

Elementaranalyse:	C	H	N
ber.	48,56	6,62	7,08
gef.	48,32	6,81	7,01

*2,4,6-Tris-O-[4-(N-benzyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]-1,3,5-tris-O-benzyl-myoinositol* (**37 a**),  $\text{C}_{66}\text{H}_{69}\text{N}_3\text{O}_{18}$  (1192,30)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **31 a** aus 1,3,5-Tris-O-benzyl-myoinositol **30** und N-Benzoyloxy-N-methylglutaramid hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 1,22 g (85 %)

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,84 - 1,91 (m, 6H,  $\text{CH}_2$ ), 2,17 - 2,37 (m, 12H,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ), 3,34 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,37 (s, 6H,  $\text{NCH}_3$ ), 4,01 (t,  $J = 9,9$ , 2H), 4,08 (s, 1H), 4,53 (d,  $J = 11,6$ , 1H), 4,59 (d,  $J = 11,9$ , 1H), 4,62 (s, 4H), 4,90 (d,  $J = 9,8$ , 2H), 5,17 (t,  $J = 9,6$ , 1H), 7,19 - 7,26 (m, 12 H, arom. H), 7,49 - 7,54 (m, 6H, arom. H), 7,64 - 7,66 (m, 3 H, arom. H), 8,04 - 8,08 (m, 6H, arom. H)

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): 19,09 (2C,  $-\text{CH}_2-$ ), 19,19 ( $-\text{CH}_2-$ ), 30,54 (2C,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 30,73 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 32,60 (2C,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 33,82 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 35,27 (3C, N- $\text{CH}_3$ ), 72,82 (2C), 73,36, 74,50 (2C,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 75,24 ( $\text{CH}_2\text{Ph}$ ), 76,00, 77,29 (2C), 127,32 - 129,80 (30C, arom. C), 134,39, 137,81, 137,97, 164,15, 171,55, 171,70, 172,68 (CON)

MS (ESI)  $m/z$  618,5  $[\text{M}+2\text{Na}]^{2+}$ , 1214,9  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*2,4,6-Tris-O-[3-(N-benzyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-propionyl]-1,3,5-tris-O-benzyl-myoinositol (37 b)*,  $\text{C}_{63}\text{H}_{69}\text{N}_3\text{O}_{15}$  (1108,26 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **31 a** aus 1,3,5-Tris-*O*-benzyl-myoinositol **30** und *N*-Benzoyloxy-*N*-methylsuccinamid hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 1,34 g (85 %)

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): 2,15 (t, 2H,  $J = 7,3$ ,  $\text{CH}_2\text{-COO}$ ), 2,24 (t,  $J = 7,0$ , 4H,  $\text{CH}_2\text{-COO}$ ), 2,38 - 2,41 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{-CON}$ ), 3,15 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ), 3,17 (s, 6H, N- $\text{CH}_3$ ), 4,06 (t,  $J = 10$ , 2H), 4,12 (t,  $J = 1,7$ , 1H), 4,6 (d,  $J = 11,7$ , 4H), 4,70 (s, 6H), 4,73 (s, 2H), 4,77 (s, 4H), 4,9 (dd,  $J = 2,5$ , 10,2, 2H), 5,26 (t,  $J = 8,0$ , 1H), 7,2 - 7,4 (m, 30 H, arom. H)

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): 27,58 (3C,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 28,94 (2C,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CO}$ ), 19,06 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CO}$ ), 32,80 (3C, N- $\text{CH}_3$ ), 55,82, 57,16, 58,71, 62,74, 69,36, 69,69, 71,24, 71,66, 76,68, 97,07, 101,93 (CH), 128,65, 128,86, 129,21 (15C, arom. C), 134,62, 171,81, 171,97 (CO), 173,29 (3C, CON)

MS (ESI)  $m/z$  1108,4  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 1130,6  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

*2,4,6-Tris-O-[4-(N-benzyloxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]-1,3,5-tris-O-benzyl-myoinositol (37 c)*,  $\text{C}_{66}\text{H}_{75}\text{N}_3\text{O}_{15}$  (1150,34 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **31 a** aus **30** und *N*-Benzoyloxy-*N*-methylglutaramid hergestellt. Man erhält einen farblosen Schaum.

Ausbeute: 1,08 g (75 %)

$^1\text{H}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,80 - 1,88 (m, 6H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2,17 (t,  $J = 7,2$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{-COO}$ ), 2,28 (t,  $J = 7,0$ , 4H,  $\text{CH}_2\text{-COO}$ ), 2,48 - 2,52 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{-CON}$ ), 3,45 (s, 3H, N- $\text{CH}_3$ ), 3,47 (s, 6H, N- $\text{CH}_3$ ), 4,08 (t,  $J = 1,2$ , 2H), 4,14 (t,  $J = 1,7$ , 1H), 4,6 (d,  $J = 11,4$ , 4H), 4,75 (s, 2H), 4,81 (s, 4H), 4,9 (dd,  $J = 2,7$ , 9,8, 2H), 5,26 (t,  $J = 7,8$ , 1H), 7,0 - 7,8 (m, 30 H, arom. H)

$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\text{CDCl}_3$ ): 19,23 (2C,  $-\text{CH}_2-$ ), 19,59 ( $-\text{CH}_2-$ ), 31,54 (2C,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 31,63 ( $-\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 33,43 (2C,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 33,49 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 33,57 (3C, N- $\text{CH}_3$ ), 73,1, 73,65, 74,68, 75,47, 76,24, 76,28, 77,51, 127,19 - 129,56 (30C, arom. C), 134,77, 137,96, 138,73, 171,52, 171,84, 174,23 (CO); MS (ESI)  $m/z$  1151,0  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 1173,3  $[\text{M}+\text{Na}]^+$ .

*2,4,6-Tris-O-[3-(N-hydroxy-N-methylcarbamoyl)-n-propionyl]-1,3,5-tris-O-benzyl-myoinositol (37 d)*,  $C_{42}H_{51}N_3O_{15}$  (837,89 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **31 d** aus **37 b** (Reaktionszeit 8 h) hergestellt. Man erhält ein farbloses Öl.

Ausbeute: 620 mg (92 %)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 2,25 (t,  $J = 7,5$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{COO}$ ), 2,43 (t,  $J = 6,8$ , 4H,  $\text{CH}_2\text{COO}$ ), 2,33 - 2,44 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{CON}$ ), 3,25 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,27 (s, 6H,  $\text{NCH}_3$ ), 4,12 (t,  $J = 1,22$ , 2H), 4,23 (t,  $J = 1,6$ , 1H), 4,7 (d,  $J = 11,4$ , 2H), 4,73 (s, 2H), 4,77 (s, 4H), 4,9 (dd,  $J = 2,3, 10,0$ , 2H), 5,26 (t,  $J = 7,8$ , 1H), 7,2 - 7,4 (m, 15H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 19,44 (2- $\text{CH}_2$ -), 19,51 (- $\text{CH}_2$ -), 30,88 (2C,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 30,97 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 33,09 (2C,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 33,23 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 33,41 (3C,  $\text{N-CH}_3$ ), 72,8, 73,45, 74,58, 75,37, 76,16, 76,21, 77,47, 127,39-129,21 (12C, arom. C), 134,38, 137,89, 138,13 (arom. C), 171,77, 171,93 (CO), 174,17 (3 CON),

MS (ESI)  $m/z$  838,7  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 860,5  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

*2,4,6-Tris-O-[4-(N-hydroxy-N-methylcarbamoyl)-n-butyryl]-1,3,5-tris-O-benzyl-myoinositol (37 e)*,  $C_{45}H_{57}N_3O_{15}$  (879,97 g/mol)

Die Verbindung wurde entsprechend der Vorschrift für **31 d** aus **37 c** (Reaktionszeit 12 h) hergestellt. Man erhält ein farbloses Öl.

Ausbeute: 445 mg (89 %)

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 1,83 - 1,92 (m, 6H,  $\text{CH}_2$ ), 2,55 (t,  $J = 7,8$ , 2H,  $\text{CH}_2\text{COO}$ ), 2,54 (t,  $J = 7,6$ , 4H,  $\text{CH}_2\text{-COO}$ ), 2,58-2,61 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{CON}$ ), 3,25 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ), 3,27 (s, 6H,  $\text{NCH}_3$ ), 4,08 (t,  $J = 1,0$ , 2H), 4,14 (t,  $J = 1,7$ , 1H), 4,36 (s, 3H), 4,76 (s, 2H), 4,81 (s, 4H), 4,90 (dd,  $J = 2,5, 10,2$ , 2H), 5,26 (t,  $J = 8,0$ , 1H), 7,2 - 7,5 (m, 15 H, arom. H)

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 19,40 (2C, - $\text{CH}_2$ -), 19,48 (- $\text{CH}_2$ -), 30,96 (2C,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 31,14 (- $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-CON}$ ), 33,18 (2C,  $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 33,27 ( $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-COO}$ ), 33,48 (3C,  $\text{N-CH}_3$ ), 72,9, 73,49, 74,64, 75,47, 76,23, 76,27, 77,44, 127,32-129,01 (12 C, arom. C), 134,28, 137,88, 138,03 (arom. C), 171,64, 171,98 (CO), 174,29 (3C, CON)

MS (ESI)  $m/z$  880,6  $[\text{M}+\text{H}]^+$ , 902,5  $[\text{M}+\text{Na}]^+$

## 5. ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde erstmalig die Synthese von artifiziellen Siderophoren auf Kohlenhydratbasis verwirklicht. Die nach dem Vorbild der natürlichen Siderophore Enterobaktin und Desferrichrom hergestellten Catecholat- und Hydroxamat-Verbindungen sollten anschließend einer breiten physikochemischen und biologischen Testung unterzogen werden, um ihre Eigenschaften als Eisenchelatoren zu untersuchen. Des Weiteren sollte ein Beitrag zur Klärung des Transportmechanismus von Eisen-Siderophor-Komplexen geleistet werden.

Es wurden verschiedene mehrstufige Synthesewege ausgearbeitet, die für die Herstellung von vorwiegend Methyl- $\alpha$ -*D*-Pyranosiden mit Catecholateinheiten einerseits und Hydroxamat- bzw. Revershydroxamateinheiten andererseits geeignet sind. Monosaccharide wurden als Grundgerüstsubstanzen ausgewählt, da diese eine vorgegebene stereochemische Struktur, die im Laufe der Synthese beibehalten werden sollte, und eine im Allgemeinen gute physiologische Verträglichkeit beim Menschen haben.

Es wurden 20 neuartige Catecholatsiderophore synthetisiert. Die Kohlenhydratgrundgerüste wurden dabei über Spacer mit den Chelatliganden verknüpft. Als Monosaccharidbausteine wurden Glucosyl- und Galaktosylderivate eingesetzt (Substanzen **2** und **3** (Abb. 12, S. 20), **9 a-g** und **10 a-g** (Abb. 16, S. 23), **15 a** und **b** (Abb. 18, S. 26) und **9 a** (Abb. 20, S. 27)).

Wegen der höheren Stabilität und Löslichkeit der Trishydroxamat-Siderophore wurde besonderes Augenmerk auf die Synthese neuartiger Trishydroxamat-Siderophore gelegt.

So wurden 15 verschiedene neue Hydroxamat- bzw. Revershydroxamat-Verbindungen als Analoga des Desferrichroms hergestellt. Als Kohlenhydratgrundgerüst wurden hier ebenfalls Methyl- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid und Methyl- $\alpha$ -*D*-galactopyranosid, aber auch Methyl- $\alpha$ -*D*-ribopyranosid, Methyl- $\alpha$ -*D*-xylopyranosid und 1,3,5-Tris-*O*-benzyl-*myo*-inositol eingesetzt (Substanzen **31 – 37 a – c** und **33 - 37 d – e**, Abb. 23, S. 30).

Zur Charakterisierung der neuen Siderophoranaloga wurden exemplarisch drei Substanzen durch die Arbeitsgruppe von Prof. A. L. Crumbliss, Durham, USA untersucht: die zwei Triscatecholatsiderophore **10 b** und **10 f** und das Hydroxamat-Siderophor **33 e**.

Die Catecholatkomplexe liegen im Bereich des physiologischen pH-Werts von pH = 7,4 in Form eines Fe<sup>III</sup>H<sub>3</sub>L-Komplexes vor. Hierbei ist es möglich, dass ein neutraler Komplex in der Bindungsstruktur eines Salicylat-Eisen-Komplexes gebildet wird. Die Berechnung der Verteilungskurven der Eisen(III)-komplexe in Lösung wurde anhand von pH-abhängigen



potentiometrischen Titrations mit Eisen(III)-lösungen und der anschließenden Bestimmung der Ligandenprotonierungskonstanten  $\log K_{H_nL}$  bzw. der Protonierungskonstanten der Eisenchelatekomplexe durchgeführt (S. 35 - 41).

Die Komplexstabilitätskonstanten und die Konzentration des freien Eisens liegen in der gleichen Größenordnung wie die einfacher synthetischer Enterobactin-Analoga und sind signifikant größer als die von Transferrin, dem Trägerprotein des Eisens im Blutserum. Somit wäre ein Einsatz als starke synthetische Siderophore sehr Erfolg versprechend.

Die Säurekonstanten des exemplarisch untersuchten Hydroxamatliganden liegen im für Hydroxamsäuren und entsprechenden synthetischen Revershydroxamaten üblichen Bereich. Die UV/VIS-Spektren und die Existenz von Ligand-Metall-Charge-Transfer-Banden bestätigen die Annahme der oktaedrischen Koordination des  $Fe^{3+}$ -Ions mit drei zweizähligen Liganden.

Der wasserlösliche Hydroxamatligand besitzt eine wesentlich ausgeprägtere Affinität zu  $Fe^{3+}$  als zu  $Fe^{2+}$ . Cyclovoltammetrische Untersuchungen zeigten ein oberhalb von  $pH = 7$  reversibles Redoxverhalten der Eisenionen. Bei kleineren  $pH$ -Werten unterliegt das System nach der Reduktion von  $Fe^{3+}$  zu  $Fe^{2+}$  einer Protonierung und anschließender Dissoziation der Hydroxamat-Gruppen (S. 42 - 45).

Ein weiteres Ziel der Arbeit war, die neu synthetisierten Siderophoranaloga auf ihre Struktur-Wirkungsbeziehung in der Eisenaufnahmefähigkeit und ihren Eisentransport in Bakterienzellen zu untersuchen. Die neu synthetisierten Verbindungen zeigen im Vergleich zu einigen ausgewählten natürlichen Siderophoren gute wachstumsfördernde Wirkungen auf gramnegative Bakterienstämme, die in ihrer Eisenversorgung gestört sind. Ihre Selektivität auf Eisenaufnahmesysteme wurde nachgewiesen, indem unterschiedliche Bakterienstämme verwendet wurden, denen spezifische Rezeptorproteine für den bakteriellen Eisentransport oder das für den Siderophortransport wichtige TonB-Protein fehlten.

Das TonB-Protein ist für den bakteriellen Eisentransport für alle Catechol- und Hydroxamatverbindungen gleichermaßen essentiell. Einige der neu synthetisierten Siderophore werden selektiv nur von bestimmten Rezeptorproteinen transportiert, während andere Verbindungen von mehreren verschiedenen Rezeptorproteinen transportiert werden können (S. 54 - 58). Insbesondere die Trishydroxamate zeigten bei allen Bakterienstämmen, denen Catecholrezeptoren wie FepA, Cir und Fiu fehlten, Aktivität. Sie haben also die Möglichkeit, auch über andere Transportmechanismen in die Zelle zu gelangen als über die üblichen Rezeptorproteine. Im Gegensatz dazu hängt die Aktivität der Catecholate

entscheidend von den Rezeptoren Cir und Fiu ab. Die in der Arbeit synthetisierten *myo*-Inosithydroxamate zeigten keine Siderophoraktivität bei gramnegativen Bakterien.

Die Bakterienstämme waren in der Biosynthese bestimmter Siderophore gehemmt oder unter Eisenmangelbedingungen gezüchtet worden. Die Siderophoranaloga riefen jedoch im Einklang mit ihrer Eisenkomplexbildungsfähigkeit unterschiedliche Wachstumsförderungen der verschiedenen Bakterienstämme hervor.

Im Einzelnen konnten jedoch große Unterschiede in ihrer spezifischen Siderophorwirkung festgestellt werden.

Die Förderung der gramnegativen Bakterienstämme ist insbesondere von den unterschiedlichen Positionen der chelatisierenden Hydroxyl- bzw. Acetylgruppen der Catecholateinheiten abhängig. Die Derivate mit 2,3-Dihydroxybenzoesäureresten sind am wirksamsten, während die Verbindungen mit 3,4-Dihydroxybenzoesäure-, 2,3-Diacetoxyphenoxyacetyl- und Benzoxazinresten das Wachstum nur gering fördern.

Der Zuckerbaustein spielt für die eigentliche Siderophorwirksamkeit keine entscheidende Rolle, denn der Austausch von Galactosyl- und Glucosylgrundgerüsten wirkt sich nicht signifikant aus. Vielmehr kann durch den Einsatz einer voluminösen Schutzgruppe an einem Zuckeralkohol die Eisenkomplexbildung herabgesetzt werden.

Zur Überwindung von Zellmembranen in Mykobakterien sind aufgrund des zweiphasigen Exochelin/Mycobactin-Mechanismus ausschließlich Siderophore geeignet, die eine höhere Affinität zu  $\text{Fe}^{3+}$ -Ionen besitzen als Exochelin.

Zwei Triscatecholate sind potentielle Kandidaten für Antibiotikakonjugatsynthesen, da sie die stärkste Aktivität bei der Wachstumsförderung der eingesetzten Mykobakterienstämme zeigen (S. 58 - 61). Ihre Wirkung bei Stämmen, welche in der Mycobactin-Biosynthese und der Exochelin-Aufnahme gehemmt sind, ist besonders hoch. Die beiden Verbindungen können somit beide Stufen des Eisentransports in Mykobakterien überwinden.

Unpolare Desferriverbindungen und aktive Eisenkomplexe der Hydroxamatliganden fördern das Wachstum der Mykobakterien besonders.

Bei allen Verbindungen, die eine hohe wachstumsfördernde Wirkung zeigten, konnte beim CAS-Test nach Schwyn & Neiland eine starke Reaktion nachgewiesen werden, während die schwach wachstumsfördernden Siderophore keine Reaktion zeigten.

Somit lässt sich die Eisenaufnahmefähigkeit mit Hilfe dieses Farbttest durch die Reaktion der synthetisierten Produkte mit einem Eisen-Chromazurol-S-Komplex bestätigen (S. 61 - 62).

Eine mögliche Verwendung von Siderophoren ist ihr Einsatz in der Malariatherapie. Dies beruht darauf, dass die Entwicklung des Malariaparasiten *Plasmodium falciparum* von einer ausreichenden Eisenversorgung abhängig ist. Zwei in den Siderophortests an gramnegativen Bakterien und Mykobakterien wenig wirksame Triscatecholate weisen eine vergleichbare bzw. bessere Aktivität gegen den Erreger auf als das bislang verwendete natürliche Siderophor Desferrioxamin B, welches als Wirkstoff die Freisetzung von Eisen aus Hämoglobin beeinflusst (S. 63 - 64).

Alle neuen Verbindungen wurden zusätzlich mikrobiell gegen Bakterienstämme untersucht. Die Ausgangsverbindung **8** übertrifft gegen einige Bakterienstämme die Hemmwerte der Vergleichssubstanz Azlocillin, eines Antibiotikums, und könnte somit erfolgreich bakterielle Resistenzen überwinden und sich bei mykobakteriellen Infektionen eignen (S. 63).

## AUSBLICK

Mit der vorliegenden Arbeit konnte bewiesen werden, dass die Entwicklung wirksamer Siderophore auf Kohlenhydratbasis möglich ist. Um ein vollständiges Bild darüber zu erhalten, welche strukturellen Voraussetzungen für eine optimale Eisenkomplexierung und Rezeptorbindung am günstigsten sind, wären jedoch weitere Synthesen von Siderophoren auf Kohlenhydratbasis notwendig. Diese sollten in ihrem Kohlenhydratgrundgerüst, z. B. in der Verwendung von Disacchariden, in ihrer Spacerlänge und in der Art ihrer chelatisierenden Liganden variieren.

Weiterhin konnten mögliche Anwendungen der synthetisierten Siderophore in der Medizin in dieser Arbeit nicht untersucht werden. Hierbei wäre z. B. die Wirkung bei Eisenüberladungskrankheiten, wie der Thalassämie oder ihre Eignung als Transfervektoren für Antibiotika von großem Interesse. Die Verknüpfung mit dem Wirkstoff müsste dann über eine spezielle Ankergruppe, z. B. die Carboxylgruppe erfolgen. Aufgrund der oben genannten Eigenschaften der Kohlenhydrate könnten auf dieser Basis synthetisierte Siderophore bzw. Siderophor-Wirkstoff-Konjugate einen Fortschritt in der Therapie bakterieller Infektionen bringen.

## 6. LITERATURVERZEICHNIS

Akiyama M.; Ikeda T.; „Design and synthesis of artificial siderophores: Lysine-based triscatecholate ligands as a model for enterobactin“, *Chem Letters* **1995**, 849-850

Albrecht-Gary, A.M.; Crumbliss, A. L.; „In *Iron Transport and Storage in Microorganisms, Plant and Animals, Vol. 35, Metal Ions in Biological Systems*“; Sigel, A., Sigel, H., Ed.: M. Dekker, Inc.: New York, **1998**; 239

Ambrosi, H. D.; Hartmann, V.; Pistorius, D.; Reissbrodt, R.; Trowitzsch-Kienast, W.; „Myxochelins B, C, D, E and F: A New Structural Principle for Powerful Siderophore Imitating Nature“, *Eur. J. Org. Chem.* **1998**, 541-551

Anderegg, G.; L'Eplattenier, F.; Schwarzenbach, G.; „Hydroxamatkomplexe III. Eisen(III) Austausch zwischen Sideraminen und Komplexionen“, *Helv. Chim. Acta* **1963**, 46, 1409-1422

Armstrong, S. K.; McIntosh, M. A.; “ Epitope insertions define functional and topological features of the Escherichia coli ferric Enterobactin receptor”, *J. Biol. Chem.*, **1995**, 270 (6), 2483-2488

Avdeef, A.; Sofen, S. R.; Bregante, T. L.; Raymond, K. N.; „Coordination Chemistry of Microbial Iron Transport Compounds. 9. Stability Constants for Catechol Models of Enterobactin“, *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 100 (17), 5362-5370

Bagg, A.; Neilands, J. B.; „Ferric uptake regulation protein acts as a repressor, employing iron (II) as a cofactor to bind the operator of an iron transport operon in Escherichia coli“, *Biochemistry*, 1987, 26 (17), 5471-5477

Ballhausen, C. J.; „Intensities of Spectral bands in Transition Metal Complexes“, *Prog. Inorg. Chem.* **1960**, 2, 251-265

Barchini, E.; Cowart, R. E.; „Extracellular iron reductase activity produced by *Listeria monocytogenes*“, *Arch. Microbiol.* **1996**, 166, 51-57

Bazin, H.; Bouchu, A.; Descotes, G.; „Hydrolysis of cyanoethylated carbohydrates: syntheses of new carboxylic derivatives of sucrose, D-glucose and D-fructose“, *J. Carbohydr. Chem.* **1995**, 14 (8), 1187-1207

Becker H. G. O.; Berger W.; Domschke G.; ...; „Organikum, Organisch-Chemisches Grundpraktikum“, 19. Auflage, Edition Deutscher Verlag der Wissenschaften, Leipzig, Berlin, Heidelberg, **1993**

Bergeron R. J.; Stolowich N. J.; Kline S. J.; „Synthesis and Solution Dynamics of Agrobactin A“, *J. Org. Chem.* **1983**, 48, 3432-3439

Bickel, H.; Gauman, E.; Nussberger, G.; Reusser, P.; Vischer, E.; Vossier, W.; Wettstein, A.; Zahner, H.; „Über die Isolierung and Charakterisierung der Ferrioxamine A-F, neuer Wuchsstoffe der Sideramingruppe“, *Helv. Chim. Acta* **1960**, 43, 2105-2118

Billington, D. C.; Baker, R.; Kulagowski, J. J.; Mawer, I. M.; „The Total Synthesis of *myo*-Inositol Phosphates via *myo*-Inositol Orthoformate“, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* **1989**, 1423-1429

Bishop, C. T.; Cooper, F. P.; „Glycosidation of Sugars: II. methanolysis of D-Xylose, D-Arabinose, D-Lyxose, and D-Ribose“, *Can. J. Chem.* **1963**, 41, 2743-2758

Bister B.; Bischoff D.; Nicholson G. J.; Valdebenito, M.; Schneider, K.; Winkelmann, G.; Handtke K.; Süßmuth, R. D.; „The structure of salmochelin: C-glucosylated enterobactins of *Salmonella enterica*“, *BioMetals* **2004**, 17 (4), 471-481

Borggreffe, G.; „Mehrbasige Äthercarbonsäuren“, *Offenlegungsschrift DE 2104976*, **1972**

Boukhalfa, H.; Brickman, T. J.; Armstrong, S. K.; Crumbiss, A. L.; „Kinetics and Mechanism of Iron(III) Dissoziation from the Dihydroxamate Siderophores Alcaligin and Rhodotorulic Acid“, *Inorg. Chem.* **2000**, 39, 5591-5602

Boukhalfa, H.; Crumbiss, A. L.; „Kinetics and Mechanism of a Catalytic Chloride Ion Effect on the Dissociation of Model Siderophore Hydroxamate-Iron(III) Complexes“, *Inorg. Chem.* **2001**, 40, 4183-4190

Boukhalfa, H.; Crumbiss, A. L.; „Chemical Aspects of siderophore mediated iron transport“, *BioMetals*, **2002**, 15, 325-339, Review

Braun, V. Handke; Köster, W.; „Bacterial iron transport: machanisms, genetics and regulation“, *Met. Ions Biol. Syst.* **1998**, 35, 67-145”

- Braun, V.; „Active transport of siderophore-mimicking antibacterials across the outer membrane”, *Drug Resistance Updates* **1999**, 2, 363-369
- Braun, V.; „Regulation of iron uptake minimizes iron mediated oxidative stress”, *J. Biosci.* **1998**, 23 (4), 483-489
- Braun, V.; „Avoidance of iron toxicity through regulation of bacterial iron transport“, *Biol. Chem.* **1997**, 378, 779-786
- Braun, V.; Gunter, K.; Hantke, K.; „Transport of iron across the outer membranes“, *Biology of Metals*, **1991**, 4, 14-22
- Braun, V.; Killmann, H.; „Bacterial solutions to the iron-supply problem“, *Trends Biol. Sci.* **1999**, 24, 104-108
- Brickmann, T. J.; McIntosh, M.A.; „Overexpression and purification of ferric enterobactin esterase from *Escherichia coli*. Demonstration of enzymatic hydrolysis of enterobactin and its iron complex.“, *J. Biol. Chem.* **1992**; 267, 12350-12355
- Buchanan, S. K.; Smith, B. S.; Venkatramani, L.; Xia, D.; Esser, L.; Palnitkar, M.; Chakraborty, R.; Helm, D. van der; Deisenhofer, J.; „Crystal structure of the outer membrane active transporter FepA from *Escherichia coli*”, *Nat. Struct. Biol.* **1999**, 6 (1), 56-63
- Cabantchik, Z. I.; Moody-Haupt, S.; Gordeuk, V.R.; „Iron chelators as anti-infectives: malaria as a paradigm”, *FEMS Immun. Med. Microbiol.* **1999**, 26, 289-298
- Cabantchik, Z. I.; „Iron Chelators as Antimalarials: The Biochemical Basis of Selective Cytotoxicity”, *Parasit. Today* **1995**, 11 (2), 74-78
- Chaudhary, S.; Hernandez, O.; „A Simplified Procedure for the Preparation of Triphenylmethylethers”, *Tetrahedr. Lett.* **1979**, 2, 95-98
- Chimiak A.; Neilands J. B.; „Lysine Analogues of siderophores“, *Struct Bonding* **1984**, 58, 89-96
- Cohen, S. M.; Meyer, M.; Raymond, K. N.; „Enterobactin Protonation and Iron Release: Hexadentate Tris-Salicylate Ligands as Models for Triprotonated Ferric Enterobactin”, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120 (25), 6277-6286

Cooper, S. R.; McArdle, J. V.; Raymond, K. N.; „Siderophoreelectrochemistry: relation to intracellular iron release mechanism.”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1978**, 75 (8), 3551-3554

Corbin, J. L.; Bulen, W. A.; „The isolation and identification of 2,3-dihydroxybenzoic acid and 2-N,6-N-Di-(2,3-dihydroxybenzoyl)-L-lysine formed by iron-deficient *Azotobacter vinelandii*“, *Biochemistry* **1969**, 8, 757-762

Corey, E. J.; Hurt, S. D.; „Synthesis of the Carboxylic Analog of Enterobactin“, *Tetrahedr. Lett.* **1977**, 45, 3923-3924

Crichton, R. R.; „*Inorganic Biochemistry of Iron Metabolism: From Molecular Mechanism to Clinical Consequences*“, 2nd ed.; Wiley: New York, **2001**.

Crumbliss, A. L.; In *Handbook of Microbial Iron Chelates*; Winkelmann, G., Ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, **1991**, 177

Dax, K.; Wolfleiner, W.; Weidmann, H.; „Eine einfache Enttritylierungsmethode”, *Carbohydr. Res.* **1978**, 65, 132-138

Descotes, J.-L.; Gelas, J.; Horton, D.; Mols, O.; „Preparative acetonation and pyranoid, vicinal trans-glycols under kinetic control: methyl 2,3: 4,6-di-O-isopropylidene- $\alpha$ - and - $\beta$ -D-glucopyranoside”, *Carbohydr. Res.* **1984**, 125, 329-325

De Voss, J. J.; Rutter, K.; Schroeder, B. G.; Barry (III), C. E.; „Iron Acquisition and Metabolism by Mycobacteria“, *J. Bacteriol.*, 1999, 181 (15), 4443-4451

Drechsel, H.; Jung, G., „Peptide Siderophores”, *J. Peptide Sci.* **1998**, 4, 147-181, Review Article

Earhart, C. F.; „Uptake and metabolism of iron and molybdenum. In *Escherichia coli* and *Salmonella*“ *Cellular and molecular biology*, **1996**, 2<sup>nd</sup> edn., 1075-1090 edited by Neidhardt, F. C. and others. Washington DC: American society für Microbiology

Ecker, D. J.; Matzanke, B. F.; Raymond, K. N.; „Recognition and transport of ferric Enterobactin in *Escherichia coli*”, *J. Bacteriol.* **1986**, 167 (2), 666-673

Egbe, D. A. M.; „Synthetische Siderophore auf der Basis von Polyhydroxyverbindungen”, *Diplomarbeit* **1995**, FSU Jena, Chemisch-Geowissenschaftliche Fakultät

Escolar, L.; Perez-Martin, J.; de Lorenzo, V.; „Opening the iron box: transcriptional metalloregulation by the Fur protein“, *J. Bacteriol.* **1999**, *181*, 6223-6229

Esteves, M. A.; Vaz, M. C. T.; Goncalves, M. L. S. S.; Farkas, E.; Santos, M. A.; „Siderophore analogues. Synthesis and chelating properties of a new macrocyclic trishydroxamate ligand“, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1995**, 2565-2575

Evers, A.; Hancock, R. D.; Martell, A. E.; Motekaitis, R. J.; „Metal ion recognition in ligands with negatively charged oxygen donor groups. Complexation of iron(III), gallium(III), indium(III), aluminum(III), and other highly charged metal ions“, *Inorg. Chem.*, **1989**, *28*, 2189-2195

Ferguson, A. D.; Hofmann, E.; Coulton, J. W.; Diederichs, K.; Welte, W.; „Siderophore-Mediated Iron Transport: Crystal Structure of FhuA with Bound Lipopolysaccharide“, *Science*, **1998**, *282*, 2215-2220

Gans, P.; Sabatini, A.; Vacca, A.; „SUPERQUAIOD: An improved general program for computation of formation constants from potentiometric data.“, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, **1985**, 1195-1200

Geffken, D.; „Direkte O-Acylierung von Hydroxylamin und N-monosubstituierten Hydroxylaminen mit 1-Benzoylimidazol“, *Chem. Ber.* **1986**, *119*, 744-746

Gerard, C.; Chehhal, H.; Hugel, R. P.; „Complexes of Iron(III) with Ligands of Biological Interest: Dopamine and 8-Hydroxyquinoline-5-Sulphonic Acid“, *Polyhedr.* **1994**, *13* (4), 591-597

Gordan, D. J.; Fenske, R. F.; „Theoretical Study of o-Quinone Complex of Iron“, *Inorg. Chem.* **1982**, *21*, 2916-2923

Hanessian, S.; Delorme, D.; Tyler, P. C.; Demailly, G.; Chapleur, Y.; „Total synthesis of the C-3 – C-17 segment of boromycin“, *Can. J. Chem.* **1983**, *61*, 634-637

Hantke, K.; „Dihydroxybenzoylserine, a Siderophore for *E. coli*“, *FEMS Microbiology Letters* **1990**, *67*, 5-8

Hantke, K.; „Iron and metal regulation in bacteria“, *Curr. Opin. Microbiol.* **2001**, *4*, 172-177



Hantke, K.; „Regulation of ferric iron transport in *Escherichia coli* K12: isolation of a constitutive mutant“, *Mol. Gen. Genet.* **1981**, *182*, 288-292

Hantke, K.; Nicholson, G.; Rabsch, W.; Winkelmann G.; „Salmochelins, siderophores of *Salmonella enterica* and uropathogenic *Escherichias coli* strains, are recognized by the outer membrane receptor IroN“, *PNAS* **2003**, *100* (7), 3677-3682

Harris, W. R.; Raymond, K. N.; „Ferric Ion Sequestering Agents. 3. The Spectrophotometric and Potentiometric Evaluation of Two New Enterobactin Analogues: 1,5,9-*N,N',N''*-Tris(2,3-dihydroxybenzoyl)triaminomethylbenzene“, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101* (22), 6534-6541

Heinisch L.; Gebhardt P.; Heidersbach R.; Reissbrodt R.; Möllmann U.; „New synthetic catecholate-type siderophores with triamine backbone“, *BioMetals.* **2002 a**, *15*, 133-144

Heinisch, L.; Ulbricht, H.; Willitzer, H.; Hanschke, K. G.; Tresselt, D.; Möllmann, U.; Eckhardt, K.; Haupt, I.; „Synthese und antibakterielle Wirksamkeit von Benzoylaminoacyl-Penicillinen und verwandten Verbindungen mit und ohne acylierte Catechol-Substituenten“, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **1992**, *42*, 668-673

Heinisch, L.; Wittmann, S.; Stoiber. T.; Berg, A.; Ankel-Fuchs, D.; Möllmann, U.; „Highly antibacterial active aminopenicillin conjugates with biscatecholate siderophores based on secondary diaminoacids and related compounds.“, *J. Med. Chem.* **2002 b**, *45*, 3032-3040

Heinisch, L.; Wittmann, S.; Stoiber. T.; Scherlitz-Hofmann, I.; Ankel-Fuchs, D.; Möllmann, U.; „Synthesis and Biological Activity of Tris- and Tetrakisatecholate Siderophores based on Poly-aza Alkanoic Acids or Alkylbenzoic Acids and their Conjugates with b-Lactam Antibiotics.“, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **2003**, *53*, 188-193

Hider, R. C.; „Siderophore mediated absorption of iron“ in Clarke, M. J.; Ibers, J. A.; Mingos, D. M. P.; Palmer, G. A.; Sadler, P. J.; Williams, J. P.; (ed.), „Structure and bonding siderophores from microorganisms and plants“, Springer Verlag, Berlin, **1984**, *58*, 26-87

Hu, J.; Miller, M.; „Total Synthesis of a Mycobactin S, a Siderophore and Growth Promoter of *Mycobacterium Smegmatis*, and Determination of its Growth Inhibitory Activity against *Mycobacterium tuberculosis*“, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 3462-3468

Ito, S.; Nardi, G.; Palumbo, A.; Prota, G.; „Isolation and characterization of adenochrome, a unique iron(III)-binding peptide from *Octopus vulgaris* , *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I* **1979**, 2617-2623

Kabalka, G. W.; Sastry, K. A. R.; McCollum, G. W.; Yoshioka, H.; „A Convenient Synthesis of Alkyl Amines via the Reaction of Organoboranes with Ammonium Hydroxide”, *J. Org. Chem* **1981**, *46*, 4296-4298

Larsen, R.A.; Myers, P.S.; Skare, J. T.; Seachord, C.L.; Darveau, R. P.; Postle, K.; „Identification of TonB homologs in the family Enterobacteriaceae and evidence for conservation of TonB-dependent energy transduction complexes“, *J. Bacteriol.* **1996**, *178*, 1363-1373

Letain, T. E.; Postle, K.; „TonB protein appears to transduce energy by shuttling between the cytoplasmic membrane and the outer membrane in Gram-negative bacteria“, *Mol Microbiol* **1997**, *24*, 271-283

Llinas, M.; Wilson, D. M.; Neilands, J. B.; „Effect of metal binding on the conformation of enterobactin. Proton and carbon-13 nuclear magnetic resonance study“, *Biochemistry* **1973**, *12*, 3836

Lin, Y.-M.; Miller, M. J.; Möllmann, U.; „The remarkable hydrophobic effect of a fatty acid side chain on the microbial growth promoting activity of a synthetic siderophore”, *BioMetals* **2001**, *14*, 153-157

Loomis, L. D.; Raymond, K. N.; „Solution Equilibria of Enterobactin and Metal-Enterobactin Complexes”, *Inorg. Chem.* **1991**, *30*, 906-911

Loyevsky, M.; Lytton, S. D.; Mester, B.; Libman, J.; Shanzer, A.; Cabantchik, Z. I.; „The Antimaterial Action of Desferal Involves a Direct Access Route to Erythrocytic (*Plasmodium falciparum*) Parasites”, *J. Am. Soc. Clin. Inv.* **1993**, *91*, 218-224

Matzanke, B. F.; Böhnke, R.; Möllmann, U.; Reissbrodt, R.; Schünemann, V.; Trautwein, A. X.; „Iron uptake and intracellular metal transfer in mycobacteria mediated by xenosiderophores”, *BioMetals* **1997**, *10*, 193-203

Martell, A. E.; Smith, R. M.; *Critical Stability Constants; Plenum Press: New York, 1974; Vol.1*

- Matzanke, B. F.; Böhnke, R.; Möllmann, U.; Schünemann, V.; Schumann, G.; Trautwein, A. X.; Winkelmann, G.; „Transport and utilization of rhizoferrin bound iron in *Mycobacterium smegmatis*”, *BioMetals* **1999**, *12*, 315-321
- Miller M. J.; „Syntheses and therapeutic potential of hydroxamic acid based siderophores and analogs. *Chemical reviews (Washington, DC, United States)* **1989**, *32* (2), 357-367
- Miller M. J.; Malouin F.; „Microbial Iron Chelators as Drug Delivery Agents-The Rational Design and Synthesis of Siderophore Drug Conjugates“, *Acc Chem Res* **1993**, *26*, 241-249
- Mori K.; „Synthesis of exo-Brevicomin, the Pheromone of Western Pine Beetle, to obtain optically active forms of known absolute configuration”, *Tetrahedron* **1974**, *30*, 4223-4227
- Neises B.; Steglich W.; „Ein einfaches Verfahren zur Veresterung von Carbonsäuren”, *Angew. Chemie* **1978**, *90*, 556-557
- Ng, C. Y.; Rodgers, S. J.; Raymond, K. N.; „Ferric ion sequestering agents. 21. Synthesis and spectrophotometric and potentiometric evaluation of trihydroxamate analogs of ferrichrome“, *Inorg. Chem.* **1989**, *28*, 2062-2066
- Newton, S. M. C.; Allen, J. S.; Cao, Z.; Qi, Z.; Jiang, X.; Sprencel, C.; Igo, J. D.; Foster, S. B.; Payne, M. A.; Klebba, P. E.; „Double Mutagenesis of a positive charge cluster in the ligand-binding site of ferric Enterobactin receptor, FepA.”, *Proc. Nat. Acad. Sci.*, **1994**, 4560-4565
- O'Brien I. G.; Gibson F.; „The Structure of Enterobactin and related 2,3-Dihydroxy-N-Benzoylserine conjugates from *Escherichia coli*“, *Biochim Biophys Acta* **1970**, *215*, 393-402
- O'Brien, I. G.; Cox, G. B.; Gibson, F.; „Enterochelin hydrolysis and iron metabolism in *Escherichia coli*“, *Biochim. Biophys. Acta* **1971**, *237*, 537-549.
- Pattus, F.; Abdallah, M. A.; „Siderophores and Iron-transport in Microorganisms“, *J. Chinese Chem. Soc.*, **2000**, *47*, 1-20
- Pollack J. R.; Neilands J. B.; „Enterobactin, an Iron Transport Compound from *Salmonella typhimurium*“, *Biochim. Biophys. Res. Commun.* **1970**, *38*, 989-992

- Pradines, B.; Ramiandrasoa, F.; Basco, L. K.; Bricard, L.; Kunesch, G.; Le Bras, J.; „In Vitro Activities of Novel Catecholate Siderophores against *Plasmodium falciparum*”, *Antimicrob. Agents Chemother.* **1996**, *40* (9), 2094-2098
- Rabsch, W.; Reissbrodt, R.; „Eisenversorgung von Bakterien und ihre Bedeutung für den infektiösen Prozeß”, *BIOforum* **1992**, *1-2*, 10-15
- Rastetter W. H.; Erickson T. J.; Venuti M. C.; „Synthesis of Iron Chelators. Enterobactin, Enantioenterobactin, and a Chiral Analogue“, *J. Org. Chem* **1981**, *46*, 3579-3590
- Ratledge, C.; Dover, L. G.; „Iron metabolism in pathogenic bacteria.”, *Annu. Rev. Microbiol.* **2000**, *54*, 881–941
- Ratledge, C.; „Iron metabolism.” *In Mycobacteria: Molecular Biology and Virulence.* Ratledge, C.; Dale. J.; (ed.), London: Blackwell Science, **1999**, 260-286
- Raymond, K. N.; „Recognition and transport of natural and synthetic siderophores by microbes”, *Pure & Appl. Chem.* **1994**, *66* (4), 773-781
- Raymond, K. N.; Cass, M. E.; Evans, S. L.; „Metal sequestering agents in bioorganic chemistry: enterobactin mediated iron transport in *E. coli* and biomimetic applications”, *Pure Appl. Chem.* **1987**, *59* (6), 771-778
- Raymond, K. N.; Dertz, E. A.; Kim, S. S.; „Enterobactin: An archetype for microbial iron transport“, *PNAS*, **2003**, *100*, 3584-3588
- Raymond, K. N.; Müller, G.; Matzanke, B. F.; In *Topics in Current Chemistry*; Boschke, F. L., Ed.; Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg, **1984**; *123*, 67
- Reid, R. T.; Live, D. H.; Faulkner, D. J.; Butler, A.; „A siderophore from a marine bacterium with an exceptional ferric ion affinity constant“, *Nature* **1993**, *366*, 455-458
- Reissbrodt, R.; Heinisch, L.; Möllmann, U.; Rabsch, W.; Ulbricht, H.; „Growth promotion of synthetic derivatives on Gram-negative bacteria“, *BioMetals*, **1993**, *6*, 155-162
- Ringbom, A.; „Complexation in analytical chemistry; a guide for the critical selection of analytical methods based on complexation reactions“, *Interscience Publishers*: New York, **1963**

Rodriguez, G. M.; Smith, I.; „Mechanisms of iron regulation in mycobacteria: role in Physiology and virulence.”, *Mol. Microbiol.*, **2003**, *47* (6), 1485-1494

Rosenberg, J. M.; Lin, Y.-M.; Lu, Y.; Miller, M. J.; „Studies and Synthesis of Siderophores, Microbial Iron Chelators, and Analogs as Potential Drug Delivery Agents”, *Curr. Med. Chem.* **2000**, *7*, 159-197

Rosenthal, A.; Baker, D. A.; „New route to Branched-Chain Amino sugars by Application of Modified Wittig Reaction to Ketoses”, *Tetrahedr. Lett.* **1969**, *6*, 397-400

Rosenthal, A.; Baker, D. A.; „Branched-Chain N-Sugar Nucleosides. 1. Nucleosides of Branched-Chain Cyanomethyl, Aminoethyl, and *N,N*-Dimethylcarbamoylmethyl Allo Sugars. 6-*N,N*-Dimethylamino-9-[3'-C-(*N,N*-dimethylcarbamoylmethyl)-3'-deoxy-*b*-D-allofuranosyl]-purine”, *J. Org. Chem.* **1973**, *38* (2), 193-197

Rotheneder, A.; Fritsche, F.; Heinische, L.; Möllmann, U.; Heggemann, S.; Larcher, C.; Weiss, G.; „Effects of Synthetic Siderophores on Proliferation of *Plasmodium falciparum* in Infected Human Erythrocytes”, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2002**, *46* (6), 2010-2013

Ryländer, P. N.; „Chapter 8: Hydrogenation of Nitrils,” in Hydrogenation Methods, ed” Ryländer, P. N., *Academic, New York* **1985**

Schnabelrauch, M.; Egbe, D. A. M.; Heinisch, L.; Reissbrodt, R.; Möllmann, U.; „Novel catecholate-type siderophore analogs based on *myo*-inositol scaffold”, *BioMetals* **1998**, *11*, 243-251

Schnabelrauch, M.; Wittmann, S.; Rahn, K.; Möllmann, U.; Reissbrodt, R.; Heinisch, L.; „New synthetic catecholate-type siderophores based on amino acids and dipeptides”, *BioMetals* **2000**, *13*, 333-348

Schubert, S.; Rakin, A.; Fischer, D.; Sorsa, J.; Heesemann, J.; „Characterization of the integration site of *Yersinia* high-pathogenicity island in *Escherichia coli*“ *FEMS Microbiology Letters* **1999**, *179*; (2); 409-414

Schumann G.; Möllmann U.; „Screening System for Xenosiderophores as Potential Drug Delivery Agents in Mycobacteria”, *Antimicrob. Ag. Chemother.* **2001**, *45*, 1317 - 1322

Schumann G.; Möllmann U.; Heinemann I.; „Mutants of *Mycobacterium* species and their use for screening of antibiotic vectors“, *Patent application* **1998** DE 19817021

Schwarzenbach, G.; Schwarzenbach, K.; „Hydroxamatkomplexe I. Die Stabilität der Eisen(III)-Komplexe einfacher Hydroxamsäuren und des Ferrioxamins B“, *Helv. Chim. Acta* **1963**, *154*, 1390-1400

Schwyn B.; Neilands J. B.; „Universal chemical assay for the determination of siderophores“, *Anal. Biochem.*, **1987**, *160*, 47-56

Shanzer, A.; Libman, J. „In *Metal Ions in Biological Systems*“; Sigel, A., Sigel, H., Eds.; Marcel Dekker: New York, **1998**; *35*, 329

Shanzer, A.; Libman, J.; Lytton, S. D.; Glickstein, H.; Chabantchik, Z. I.; „Reversed siderophores act as antimalarial agents“, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1991**, *88*, 6585-6589

Sharma, S. K.; Miller, M. J.; Payne, S. M.; „Spermaxatin and Spermaxatol: New Synthetic Spermidine-Based Siderophore Analogues“, *J. Med. Chem.* **1989**, *32*, 357-367

Sillen L. G.; Warnqvist B.; „High-speed computers as a supplement to graphical methods.10; Applications of LETAGROP to spectrophotometric data for testing models and adjusting equilibrium constants“, *Chem. Archiv*, **1968**, *31*, 377-390

Singh, S.; „Therapeutically Useful Iron Chelators“, *Chem. Industry* **1994**, 452-455

Spasojevic, I.; Boukhalfa, H.; Stevens, R. D.; Crumbliss, A. L.; „Aqueous Solution Speciation of Fe(III) Complexes with Dihydroxamate Siderophores Alcaligin and Rhodotorulic Acid and Synthetic Analogues Using Electrospray Ionization mass Spectrometry“, *Inorg. Chem.* **2001**, *40*, 49-58

Sulsky R.; Demers P.; „Alkylation of *N*-Benzylureas and Carbamates“, *Tetrahedron Letters* **1989**, *30* (1), 31-34

Tse, B.; Kishi, Y.; „Chiral Analogs of Enterobactin with Hydrophilic Lipophilic Properties“, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 7892-7893

Van der Helm, D.; Baker, J. R.; Eng-Wilmot, D. L.; Hossain, M. B.; Loghry, R. A.; „Crystal structure of ferrichrome and a comparison with the structure of ferrichrome A“, *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 4224-4231

Vartivarian, S. E.; Cowart, R. E.; „Extracellular Iron Reductases: Identification of a New Class of Enzymes by Siderophore-Producing Microorganisms“, *Arch. Biochem. Biophys.* **1999**, *364*, 74-82.

Wayne, R.; Neilands J.B.; „Evidence for common binding sites for ferrichrome compounds and bacteriophage phi 80 in the cell envelope of *Escherichia coli*.“, *J. Bacteriol.* **1975**, *121*, (2), 497-503

Weitl F. L.; Raymond K. N.; „Ferric Ion Sequestering Agents. 1. Hexadentate O-Bonding *N,N',N''*-Tris(2,3-dihydroxybenzoyl) Derivatives of 1,5,9-Triazacyclotridecane and 1,3,5-Triaminomethylbenzene“, *J. Am. Chem. Soc.* **1979**, *101*, 2728-2731

Winkelmann, G.: *Handbook of Microbial Iron Chelates*“, Winkelmann, G., Ed.; *CRC Press: Boca Raton, FL*, **1991**, 65.

Wittmann, S.; Schnabelrauch, M.; Scherlitz-Hofmann, I., Möllmann, U.; Ankel-Fuchs, D.; Heinisch, L.; „New Synthetic Siderophores and their  $\beta$ -Lactame Conjugates based on Diamino Acids and Dipeptides“, *Bioorg. Med. Chem.* **2002**, *10*, 1659-1670

Wittmann, S.; Scherlitz-Hofmann, I., Möllmann, U.; Ankel-Fuchs, D.; Heinisch, L.; „8-Acyloxy-1,3-benzoxazine-2,4-diones as siderophore components for antibiotics.“, *Arzneimittelforschung*, **2000**, *50* (8), 752-757

Wong, G. B.; Kappel, M. J.; Raymond, K. N.; Matzanke, B.; Winkelmann, G.; „Coordination chemistry of microbial iron transport compounds. 24. Characterization of coprogen and ferricrocin, two ferric hydroxamate siderophores“, *J. Am. Chem. Soc.* **1983**, *105*, 810-815

Xu, Y.; Miller, M. J.; „Total Syntheses of Mycobactin Analogues as Potent Antimycobacterial Agents Using a Minimal Protecting Group Strategy“, *J. Org. Chem.*, **1998**, *63*, 4314-4322

Yun, C.-W.; Ferea, T.; Rashford, J.; Ardon, O.; Brown, P. O.; Botstein, D.; Kaplan, J.; Philpott, C. C.; „Desferrioxamine-mediated Iron Uptake in *Saccharomyces cerevisiae*. Evidence for two pathways of iron uptake“, *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 10709-10715

Zähner, H.; Diddens, H.; Keller-Schierlein, W.; Nägeli, H.-U. „Some experiments with semisynthetic sideromycins“, *Jap. J. Antibiotics* **1977**, *30*, S201-S206

## **PUBLIKATIONEN IM RAHMEN DER DOKTORARBEIT:**

Heggemann, S.; Möllmann U.; Gebhard, P.; Heinisch L.; „Trishydroxamates and triscatecholates based on monosaccharides and *myo*-inositol as artificial siderophores“, *BioMetals*, **2003**, *16* (4), 539 – 551

Dhungana, S.; Heggemann, S.; Gebhardt, P.; Möllmann U.; Crumbliss, A. L.; "Fe(III) Coordination Properties of a New Saccharide Based Exocyclic Trihydroxamate Analogue of *Ferrichrome*" *Inorg. Chem.*, **2003**, *42*, 42 – 50

Rotheneder A.; Fritsche G.; Heinisch L.; Möllmann U.; Heggemann S.; Larcher C.; Weiss G.; „Effect of synthetic siderophores on the proliferation of *Plasmodium falciparum* in infected human erythrocytes“, *Antimicrob Agents Chemother.* **2002**, *46*; 2010-2013.

Heggemann, S.; Schnabelrauch M.; Klemm D.; Möllmann U.; Reissbrodt R.; Heinisch L.; “New artificial siderophores based on a monosaccharide scaffold“, *BioMetals*, **2001**, *14*(1), 1-11

Dhungana, S., Heggemann S.; Heinisch, L.; Möllmann, U.; Boukhalfa, H.; Crumbliss, A. L.; "Fe(III) Coordination Properties of Two New Saccharide Based Enterobactin Analogs: Methyl 2,3,4-tris-*O*-{*N*-[2,3-di(hydroxy)benzoyl-glycyl]-aminopropyl}- $\alpha$ -*D*-glucopyranosid and Methyl 2,3,4-tris-*O*-{*N*-[2,3-di-(hydroxy)-benzoyl]-aminopropyl}- $\alpha$ -*D*-glucopyranoside", *Inorg. Chem.*, **2001**, *40*, 7079-7086

Heggemann, S.; Möllmann U.; Heinisch L.; “Novel *O*-(aminoalkyl)derivatives of monosaccharides, the methods of their synthesis and their application” *Deutsches Patent Offenlegungsschrift DE 19942864 A1*, 15.03.2001



## DANKSAGUNG

An erster Stelle gilt mein Dank meinem Betreuer und Projektleiter *Herrn Dr. L. Heinisch* für die Möglichkeit, auf dem aktuellen und interdisziplinären Gebiet der Siderophore meine Dissertation anfertigen zu können. Ich möchte mich für seine stete Diskussionsbereitschaft und die Freiräume, die er mir bei der Durchführung der Arbeiten gewährte und seine lange Geduld bedanken.

*Herrn Prof. Dr. U. Gräfe* danke ich sehr für seine wertvollen Anregungen und Hilfsbereitschaft und bedauere sehr, dass er zu früh und zu plötzlich seine Wissenschaft aufgeben mußte.

*Herrn Prof. Dr. D. Klemm* danke ich für die Übernahme des Gutachtens und der Betreuung meiner Arbeit und der guten Zusammenarbeit im Sonderforschungsbereich.

*Herrn Prof. Dr. W. Plass* danke ich für die Übernahme des Korreferates.

*Herrn Prof. A. L. Crumbliss* und *Frau Dr. S. Dhunghana* von der Duke Universität, Durham, NC, USA danke ich für die gute internationale Zusammenarbeit und die physikochemischen Untersuchungen an einzelnen Verbindungen meiner Arbeit.

*Frau Dr. U. Möllmann* und *Frau Heinemann* danke ich sehr herzlich für die mikrobiologischen Testungen und ihre stete Diskussionsbereitschaft über die erhaltenen Ergebnisse.

*Herrn Dr. R. Reissbrodt* von Robert Koch Institut, Wernigerode, danke ich ebenfalls für die Untersuchung verschiedener Siderophoraktivitäten einzelner Substanzen.

*Herrn Prof. G. Weiss* und *Frau Dr. A. Rotheneder* danke ich für die Untersuchung ausgewählter Substanzen gegen Malariaerreger.

Bei allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe möchte ich mich für die Kollegialität und das angenehme Arbeitsklima bedanken, besonders herausheben möchte ich dabei *Eva Krüger-Velthusen*, die mir bei der Durchsicht meiner Arbeit behilflich war. Ohne ihre moralische Unterstützung wäre diese Arbeit vermutlich nicht fertiggestellt worden.

*Frau Perner*, *Frau Koch* und *Frau Heinecke* danke ich für die Aufnahme der Massen- und NMR-Spektren, *Frau Trübner* für die Aufnahme von Elementaranalysen und Drehwertbestimmungen. *Frau Heidersbach* und *Frau Fritsche* danke ich für die Hilfen im Rahmen der Synthesen.

Ein besonderer Dank gilt *meinen Eltern*, die mich im Laufe des Studiums stets unterstützt und mir geholfen haben, meine Ziele zu erreichen.

Allen Freunden danke ich für ihre moralische Unterstützung und aufmunternden Worte.

Die vorliegende Arbeit wurde finanziert und gefördert durch den Sonderforschungsbereich 436: „Metallvermittelte Reaktionen nach dem Vorbild der Natur“ der *Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG)*, wofür ich mich hiermit ebenfalls bedanken möchte.

# **LEBENS LAUF**

## **Persönliche Daten**

Vorname, Name: Susanne Heggemann  
Geburtsdatum, -ort: 27. November 1969 in Georgsmarienhütte  
Familienstand: ledig

## **Schul Ausbildung**

08/1976-07/1980 Grundschule Hilter-Borgloh a.T.W.  
08/1980-07/1982 Orientierungsstufe Osnabrück  
08/1982-06/1989 Gymnasium Ursulaschule Osnabrück  
Mai 1989 Abitur

## **Hochschulausbildung**

WS1989/90 –WS1996/1997 Chemiestudium an der Carl von Ossietzky Universität  
Oldenburg  
03/1996-11/1996 Diplomarbeit bei Prof. Dr. C.H. Hamann in der  
Arbeitsgruppe Angewandte Physikalische Chemie der  
Universität Oldenburg  
01/1997 Diplom-Chemiker  
10/1997-06/2001 Promotion bei Prof. Dr. U. Gräfe/Dr. L. Heinisch am Hans  
Knöll-Institut für Naturstoff-Forschung, Jena

## **Wissenschaftliche Tätigkeiten**

10/1997-06/2001 wissenschaftliche Mitarbeiterin im Arbeitskreis von  
Prof. Dr. U. Gräfe/Dr. L. Heinisch am Hans Knöll-Institut  
für Naturstoff-Forschung, Jena  
Seit 07/2001 wissenschaftliche Mitarbeiterin bei der Forschungs-  
einrichtung Innovent Technologieentwicklung e.V.

Jena, den 08.12.2006

## **SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG**

Ich erkläre, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und nur unter der Verwendung der angegebenen Hilfsmittel und Literatur angefertigt habe.

Jena, den 08.12.2006